

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON
(PHYSIOLOGIE)

PAR

LOUIS MARTIN O. I. , O. N. *

Pharmacien de première classe,

Inspecteur des Pharmacies,

Expert des Tribunaux,

Membre du Conseil départemental d'Hygiène du Var.

1^{re} THÈSE. — DE L'ATMOLYSE ET DE SES APPLICATIONS EN PHYSIOLOGIE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues en Février 1923, devant la Commission d'examen

MM. COUVREUR . . . *Président.*

RAY

CLÉMENT.

Examineurs.

LYON

SOCIÉTÉ ANONYME DE L'IMPRIMERIE A. REY

IMPRIMEUR DE L'UNIVERSITÉ

4. RUE GENTIL, 4

1923

DE L'ATMOLYSE

ET DE

SES APPLICATIONS EN PHYSIOLOGIE

UNIVERSITÉ DE LYON. — FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. DEPÉRET, * O., I. ☉, ✱.

Assesseur

M. KOEHLER, *, I. ☉, ✱.

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT, I. ☉. — DUBOIS, *, I. ☉, G.O. †, ✱. — VIGNON, *, I. ☉.

Professeurs

MM. GOUY, *, I. ☉ *Physique.*
GÉRARD, * O, I. ☉, ✱ *Botanique.*
DEPÉRET, * O., I. ☉, ✱ *Géologie.*
KOEHLER, *, I. ☉, ✱ *Zoologie.*
OFFRET, *, I. ☉, ✱ *Minéralogie théorique et appliquée.*
GRIGNARD, * O, I. ☉, ✱, P. N. *Chimie organique.*
LE VAVASSEUR, I. ☉ *Calcul différentiel et intégral.*
DULAC, *, I. ☉ *Mathématiques pures.*
MASCART, I. ☉, ✱ *Astronomie physique.*
SIRE, A. ☉ *Mécanique rationnelle et appliquée.*
COUVREUR, I. ☉ *Physiologie générale et comparée.*
MEUNIER, *, I. ☉ *Chimie industrielle.*
COUTURIER, I. ☉, ✱ *Chimie agricole.*

Professeurs sans chaire

MM. VAUTIER, I. ☉ *Physique.*
VANEY, I. ☉ *Zoologie.*
RIGOLLOT, *, I. ☉ *Physique industrielle.*
THOVERT, *, I. ☉, ✱ *Physique.*

Chargés de cours complémentaires et Maîtres de conférences

MM. RAY, I. ☉ *Botanique.*
LOCQUIN, I. ☉ *Chimie générale.*
JOB *Chimie physique.*
PIERRON, I. ☉ *Chimie appliquée.*
BONNET, I. ☉ *Zoologie appliquée et Zootechnie.*
ROMAN, I. ☉ *Géologie agricole.*
CHIFFLOT, I. ☉, ✱ *Botanique.*
WIERNBERGER, *, A. ☉ *Mathématiques générales.*
MAYET, *, I. ☉ *Anthropologie.*
GUILLIERMOND, I. ☉ *Botanique agricole.*
PELOSSE, A. ☉ *Sériciculture.*
CLÉMENT, I. ☉, ✱ *Physiologie*
DONCIEUX, I. ☉ *P. C. N. supérieur.*

Secrétaire

M. CLÈRE, I. ☉.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON
(PHYSIOLOGIE)

PAR

LOUIS MARTIN O. I. , O. N. 

Pharmacien de première classe,
Inspecteur des Pharmacies,
Expert des Tribunaux,
Membre du Conseil départemental d'Hygiène du Var.

1^{re} THÈSE. — DE L'ATMOLYSE ET DE SES APPLICATIONS EN PHYSIOLOGIE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues en Février 1923, devant la Commission d'examen

MM. COUVREUR . . .	Président.
RAY	} Examinateurs.
CLÉMENT.	



LYON

SOCIÉTÉ ANONYME DE L'IMPRIMERIE A. REY

IMPRIMEUR DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4

1923



Digitized by the Internet Archive
in 2026

DE L'ATMOLYSE

ET DE

SES APPLICATIONS EN PHYSIOLOGIE

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION

L'atmolyse est une découverte de date relativement récente, mais il n'en est pas de même de ses origines : elles sont du domaine de la physiologie, car c'est en étudiant le mécanisme intime de l'action physiologique générale de l'alcool et des vapeurs anesthésiques sur le bioprotéon ou substance vivante que son inventeur, le professeur Raphaël Dubois, a été progressivement conduit à imaginer ce nouveau procédé d'analyse immédiate.

Son application à la pharmacologie a attiré mon attention, et je me suis proposé dans ce travail, non seulement de présenter la question de l'*atmolyse* sous son véritable jour en suivant pas à pas son évolution, mais encore d'apporter des faits expérimentaux nouveaux intéressants au point de vue de l'explication du mécanisme intime de certains phénomènes de physiologie générale, c'est-à-dire communs aux animaux et aux végétaux, et, en outre, un appoint dont l'utilité pratique sera peut-être un jour plus importante qu'on ne pourrait le supposer dès maintenant, car il s'agit en réalité d'un procédé d'analyse immédiate qui, bien que né d'hier, a pourtant donné déjà des

preuves certaines de sa supériorité, dans certains cas, sur ceux qui étaient connus avant lui.

Ces cas se généraliseront certainement, et c'est surtout vers ce point qu'ont tendu mes efforts. Puissent-ils suggérer à d'autres chercheurs le désir de continuer à creuser le sillon ouvert par le Maître lyonnais dans un champ de la science, encore bien peu exploré, mais qui semble plein d'avenir!

On paraît trop oublier que quantité de découvertes, passées plus ou moins complètement aujourd'hui dans le domaine de la physique, de la mécanique ou de l'industrie, ont des origines physiologiques. N'est-ce pas en faisant des expériences sur la contraction des pattes de grenouille que Galvani eut l'idée de l'électricité? Et, n'est-ce pas en s'inspirant de la structure des organes de la raie-torpille que Volta imagina la construction de sa pile à colonne? On pourrait en dire autant de la découverte de l'osmose, de la dialyse avec toutes ses applications scientifiques et industrielles. Peut-être, des recherches poursuivies pendant de nombreuses années par Raphaël Dubois sur la production de la lumière par les végétaux et les animaux, l'éclairage idéal par la lumière froide naîtra-t-il un jour¹! L'étude du vol des oiseaux n'a-t-elle pas conduit au triomphe du plus lourd que l'air et à la création de l'aviation? Peut-être que demain les végétaux nous diront aussi comment ils font pour capter et emmagasiner la chaleur et l'énergie solaires!

A côté de ces grandes conceptions, l'atmolyse occupe une place bien modeste sans doute, mais pourtant il ne faut pas oublier qu'elle est sortie d'expériences qui ont permis à Raphaël Dubois d'expliquer le mécanisme physiologique intime des alcools, des vapeurs anesthésiques, du gel, de la

¹ On sait que c'est à ce physiologiste que revient le mérite d'avoir découvert le secret de la lumière vivante, depuis si longtemps cherché par de très nombreux savants et non des moindres, et qu'elle peut être reproduite *in vitro* par la réaction de deux substances qu'il a pu isoler et caractériser : la luciférase et la luciférine.

localisation des ferments solubles et de découvrir la loi des équivalents physiologiques.

Je ne puis apporter actuellement qu'une faible contribution à la question de l'atmolyse, mon principal mérite sera peut-être d'avoir voulu rendre à la science française et particulièrement à l'auteur de la découverte de l'atmolyse la justice qui leur était due.

Ce travail ayant été fait en grande partie au laboratoire maritime de Tamaris-sur-Mer (Var), je prie son directeur-fondateur, M. le professeur Raphaël Dubois, d'agréer le témoignage de ma vive reconnaissance pour les renseignements bibliographiques qu'il a bien voulu me donner, et pour les savants conseils qu'il m'a si généreusement prodigués.

Dans l'exposé du dit travail j'ai adopté la division suivante :

Premier chapitre : Introduction ;

Deuxième chapitre : Bibliographie ;

Troisième chapitre : Historique ;

Quatrième chapitre : Recherches sur le mécanisme intime de l'atmolyse ;

Cinquième chapitre : Recherches expérimentales sur l'atmolyse des tissus végétaux et sur ceux de certains animaux marins ;

Sixième chapitre : Considérations générales sur l'atmolyse et conclusions.

CHAPITRE II

BIBLIOGRAPHIE

- [1]. 1874. DUBOIS (R.), Du mode d'action de l'alcool sur l'économie (*C. R. Soc. de Biol.*, p. 156).
- [2]. 1876. LEGRIP, Procédé d'extraction des sucs végétaux par l'éther (*Rép. de Pharm.*, Paris, p. 225).
- [3]. 1881. DUBOIS (R.), Conférences sur l'alcoolisme (*Bull. Soc. Philot. du Maine*).
- [4]. 1883 *Id.*, Recherches préliminaires sur le mode d'action de quelques liquides organiques neutres sur la substance organisée (*C. R. Soc. de Biol.*, p. 23).
- [5]. 1883. *Id.*, Expériences relatives à l'action de quelques liquides organiques neutres sur la substance organisée (*C. R. Soc. de Biol.*, p. 100).
- [6]. 1883. *Id.*, Sur l'action des vapeurs de quelques liquides organiques neutres sur la substance organisée (*C. R. Soc. de Biol.*, p. 376).
- [7]. 1884. *Id.*, Action des liquides organiques neutres sur la substance organisée (*C. R. Soc. de Biol.*, p. 317).
- [8]. 1884. *Id.*, Tension de dissociation de l'eau et des tissus (*C. R. Soc. de Biol.*, p. 447).
- [9]. 1884. *Id.*, Déshydratation des tissus par le chloroforme, l'éther et l'alcool (*C. R. Soc. de Biol.*, p. 582).
- [10]. 1885. Action du protoxyde d'azote sur les Echeverias (*C. R. Soc. de Biol.*, p. 110).
- [11]. 1886 *Id.*, Influence des vapeurs anesthésiques sur les tissus vivants (*C. R. Ac. Sc.*).
- [12]. 1890. *Id.*, Nouvelle méthode d'embaumement et de momification du corps humain. Mém. lu à l'Ac. de méd. le 30 décembre

- 1890, et *Embaumement et momification, procédé de conservation du Dr Raphaël Dubois, applicable soit à l'inhumation, soit à la crémation, rapide et économique*, A. Rey, imp. éditeur, Lyon, 1915.
- [13]. 1891. *Id.*, Mécanisme de l'action des anesthésiques (*Rev. gén. des Sc. pures et appl.*, II, p. 562-566).
- [14]. 1891. *Id.*, Mécanisme intime de l'anesthésie générale (*Rev. gén. des Sc. pures et appl.*, p. 563).
- [15]. 1894. *Id.*, *l'Anesthésie physiologique et ses applications*, Masson, édit., Paris.
- [16]. 1895. *Id.*, Alcools (*Dict. de Physiol. de Ch. Richet*, I, p. 134-144).
- [17]. 1895. RICHET (Ch.), Alcools (*Toxicologie générale*, I, p. 144-149).
- [18]. 1901. STEFANOWSKA et JOTEYKO, *Sur l'action des anesthésiques sur les infusoires et sur les nerfs*, et STEFANOWSKA, Déshydratation du protoplasme vivant par l'éther, le chloroforme et l'alcool, contribution à l'étude de l'anesthésie (*Ann. Soc. belge de microg.*, XXVII), et : Sur le Mode de formation des varicosités dans le prolongement des cellules nerveuses (*Travaux du Lab. de l'Institut Solvay*, III, fasc. 3).
- [19]. 1901. DUBOIS (R.), Dialyse cellulaire par les liquides organiques neutres, chloroforme, éther, etc. (*C. R. Soc. Biol.*, LIII, p. 93).
- [20]. 1901. *Id.*, Sur la dialyse cellulaire appliquée comme procédé de recherche de l'action des zymases dans l'intérieur des tissus (*C. R. Soc. Biol.*, LIII, p. 126).
- [21]. 1901. DASTRE, Sur la dialyse chloroformique comme procédé de recherche des ferments endocellulaires (*C. R. Soc. Biol.*, p. 34), et : A propos de la recherche des ferments endocellulaires par la dialyse chloroformique (*C. R. Soc. Biol.*, LIII, p. 171).
- [22]. 1901. DUBOIS (R.), Nouvelles recherches sur la biophotogénèse (*C. R. Soc. Biol.*, 29 juin, LIII, p. 702-703).
- [23]. 1901. *Id.*, Mécanisme intime de la formation de la luciférine, analogie, homologie des organes de Poli et de la glande hypobranchiale des mollusques purpurigènes (*C. R. Soc. Biol.*, LIII).
- [24]. 1901. OVERTON (E.), *Studien über die Narkose*, Iéna.
- [25]. 1902. DUBOIS (R.), Sur le mécanisme comparé de l'action du froid et des anesthésiques sur la nutrition et la reproduction (*C. R. Ac. Sc.*, 26 mai).
- [26]. 1902. VALENTINO, Du mode d'action de l'alcool sur l'économie dans

l'alcoolisme aigu : l'alcool comme toxique et comme déshydratant (*Rev. de Méd.*, p. 74-95).

- [27]. 1903. DUBOIS (R.), Biophotogénèse ou production de la lumière par les êtres vivants (*Traité de physique biologique de Chauveau et d'Arsonval*, II, p. 311, Masson, éd., Paris).
- [28]. 1905. *Id.*, article Hydratation (fonction d') du *Dict. de Physiol. de Ch. Richet*, VIII, p. 674.
- [29]. 1906. FAURÉ-FRÉMIET, Phénomènes protoplasmiques dus à l'anesthésie chez *Glaucoma viridis* (*C. R. Soc. Biol.*, p. 491).
- [30]. 1906. DUBOIS (R.), Sur le forçage des plantes par les anesthésiques généraux (*C. R. du Congrès de l'A. F. A. S.* (section d'économie), Lyon).
- [31]. 1908. RAMON, *Journ. de Physiol. et de Path. gén.*, novembre.
- [32]. 1909. HECKEL, Influence des anesthésiques et du gel sur les plantes à coumarine (*C. R. Ac. Sc.*, CXLIX, p. 829).
- [33]. 1909. GUIGNARD (L.), Influence de l'anesthésie et du gel sur le dédoublement de certains glucosides chez les plantes (*C. R. Ac. Sc.*, CXLIX, p. 91).
- [34]. 1909. MIRANDE (M.), Influence exercée par certaines vapeurs sur la cyanogénèse végétale, procédé rapide pour la recherche des plantes à acide cyanhydrique (*C. R. Ac. Sc.*, CXLIX, 12 juillet).
- [35]. 1909. PERROT (E.) et GORIS (A.), Stabilisation des plantes médicinales dans leurs rapports avec leur activité thérapeutique (*Bull. des Sc. Pharm.*, XVI), et : Une nouvelle forme galénique, les extraits physiologiques végétaux (*Bull. Soc. Thérap.*, 5 décembre).
- [36]. 1910. GUÉRIN, l'Action des anesthésiques, du froid et des rayons ultra-violetts sur certaines plantes (*C. R. Ac. Sc.*, n° 26, série 2, 24 décembre, p. 814, et *Rev. scient.*, 1910),
- [37]. 1910. HECKEL (E.), De l'action du froid et des anesthésiques sur l'*Angræcum fragrans* Thou (Faham), et sur les gousses vertes de vanille (*C. R. Ac. Sc.*, CLI, p. 128).
- [38]. 1910. BILLARD, Toxicologie du suc d'autolyse du foie de porc (*C. R. Soc. Biol.*, LXIX, n° 34).
- [39]. 1910. POUQUET, Action des rayons ultra-violetts sur les plantes à coumarine et sur celles dont l'odeur provient du dédoublement des glucosides (*C. R. Ac. Sc.*, 19 septembre, et *Répert. de Pharm.*, n° 11, 10 novembre).
- [40]. 1911. PERMILLEUX, Recherche du ferment amylolytique dans le foie (*C. R. Soc. Biol.*, CLIII, p. 32).

- [41]. 1911. DUBOIS (R.), Atmolyse et atmolyseur (*C. R. Ac. Sc.*, CLIII, p. 1180); *Id.*, Reprinted from original communications, *Eighth international Congress of applied chemistry*, XIX, p. 95).
- [42]. 1912. *Id.*, Atmolyse et atmolyseur (*Rev. mod. de Pharm.*, p. 362-364, 1 figure).
- [43]. 1912. DEROCHE, Action du gel sur les cellules végétales (*C. R. Soc. Biol.*, LXXII, p. 748), et MATRUCHOT et MOLLIARD, Modifications produites par le gel dans la structure des cellules végétales (*Rev. gén. de Bot.*, XIV, p. 401).
- [44]. 1912. DOYON, Action des liquides anesthésiques sur le foie, rapprochement avec les effets du gel (*C. R. Soc. Biol.*, LXXII, p. 306). — Isolement de la substance anticoagulante du foie par la dialyse chloroformique (*C. R. Soc. Biol.*, LXXII, p. 59). — Entraînement de l'antithrombine hépatique par l'eau salée additionnée de chloroforme (*C. R. Soc. Biol.*, LXXII, p. 133). — Action des vapeurs anesthésiques sur le foie, rapprochement avec les effets du gel (*ibid.*, p. 306). — Extraction comparée de l'antithrombine des intestins par la dialyse chloroformique, l'action de la chaleur de l'autoclave, la macération (*ibid.*, p. 727).
- [45]. 1912. DELFINO (V.), Atmolyzis y atmolyzador por el Raphaël Dubois, prof de Fisiolog. general y comp. arada en la Facultad de ciencias de Lyon, director de laboratorio de Tamaris-sur-Mer (*Semana medica*, abril).
- [46]. 1913. BOULANGER et DAUSSE (*Bull. de la Soc. de Pharm. de Lyon*, 35^e année, n° 8, août).
- [47]. 1913. DUBOIS (R.), Produits pharmaceutiques atmolysés (*C. R. du Congrès de l'A. F. A. S.*, Tunis, 25 mars, p. 146).
- [48]. 1913. SARVONAT, Recherches sur l'acide oxalique dans l'organisme animal, p. 109 (*Ann. de l'Univ. de Lyon*, nouvelle série, I, *Sc. et Méd.*, fasc. 35).
- [49]. 1913. ARTHUS, Quelques remarques sur le mode d'action des anesthésiques généraux (*C. R. Soc. Biol.*, 28 novembre).
- [50]. 1914. NAGEOTTE, *C. R. Soc. Biol.*, LXXVII, p. 301.
- [51]. 1914. MAZÉ, Action du chloroforme et de l'éther sur l'inversion du saccharose de la racine de betterave (*C. R. Soc. Biol.*, 25 décembre, LXXVII, p. 549-550), et: les Echanges nutritifs chez les végétaux. Rôle du protoplasme (action du chloroforme) (*C. R. Ac. des Sc.*, 1914, 2^e série, CLIX, n° 24. Séance du 7 décembre).

- [52]. 1914. CAMUS (L.), Contribution à l'étude du mécanisme de la stérilisation par les liquides anesthésiques (*C. R. Soc. Biol.*, LXXVI, p. 164).
- [53]. 1918. GALIPPE (V.), De la présence d'éléments vivants dans le tissu musculaire (*Bull. Ac. Méd.*, série 3, LXXX, p. 70).
- [54]. 1921. LÉPINE (R.), *le Sucre du sang*, p. 87, chez Félix Alcan, édit., Paris.
- [55]. 1921. DUBOIS (R.), la Pourpre, in *La Science et la Vie*, juillet 1921, et sur le venin de la glande à pourpre des *Murex* (*Bull. de la Soc. Biol.*, LV, p. 81, pour la bibliographie complète, v. R. Dubois : Recherches sur la pourpre et sur quelques pigments animaux (*Arch. de zool. exp. et gén.*, 5^e série, II, n° 7, 1909).
- [56]. 1895. COUVREUR (E.), Sur la variation des substances de réserve des graines pendant la maturation et la germination (*Ann. de la Société Linnéenne de Lyon*).
-

CHAPITRE III

HISTORIQUE ET ÉVOLUTION DE LA QUESTION DE L'ATMOLYSE

Les premières recherches de Raphaël Dubois sur l'action des alcools sur la substance vivante ou bioprotéon remontent à l'année 1870. Il était alors interne en pharmacie et stagiaire en médecine dans le service du professeur Béhier, à la clinique médicale de l'Hôtel-Dieu de Paris. Le maître employait, *largamane*, l'alcool comme antipyrétique. Pourtant, les traités classiques de thérapeutique, particulièrement celui de Bouchardat, indiquaient que l'alcool était un « aliment respiratoire » brûlé par l'économie et transformé en acide carbonique et en eau. Comment se pouvait-il qu'un aliment combustible de cette nature pût combattre la fièvre, abaisser la température des fébricitants ? D'autre part les recherches de Duroy, Lallemand et Perrin avaient établi que l'alcool ingéré en certaine proportion est éliminé par le rein, par la respiration, sans avoir subi d'altération notable dans l'économie. Il agissait donc, pour ainsi dire, par une action de présence, mais quelle pouvait bien être cette action ?

R. Dubois imagina alors un certain nombre d'expériences sur les cobayes, sur les grenouilles, sur des tissus animaux et végétaux et des organes isolés, et principalement, pour juger de l'effet de l'alcool sur les cellules isolées, il utilisa la levure de bière, pour laquelle l'alcool, dans certaines conditions, devient un véritable agent antithermique. On sait, en effet,

que, quand l'alcool produit par la fermentation a dépassé une certaine limite, la fermentation se ralentit en même temps que la production de l'acide carbonique, et que, corrélativement, la température s'abaisse progressivement alors qu'il reste encore dans le moût une quantité de sucre capable d'alimenter la fermentation. C'est à cette occasion qu'il fit voir qu'il fallait, pour ralentir et finalement suspendre le processus fermentatif, moins d'alcool amylique et plus d'alcool méthylique que d'alcool éthylique. Le pouvoir anti fermentescible et antithermique était en raison inverse des poids moléculaires des alcools expérimentés : cette loi fut ultérieurement vérifiée par Audigé et Dujardin-Beaumetz sur les chiens auxquels on faisait absorber divers alcools par injections sous-cutanées, pour connaître leur activité physiologique ou plutôt toxique. De ses expériences R. Dubois concluait que, non seulement l'alcool, en raison de son pouvoir exosmotique considérable par rapport à celui de l'eau, empêche la pénétration du liquide sucré dans les cellules de levure de bière, mais que, pour celle-ci, comme pour toutes les cellules d'ailleurs, cette même action exosmotique sollicite l'eau à sortir des cellules des tissus vivants, lesquels peuvent contenir jusqu'à 98 pour 100 d'eau, ainsi que l'on sait, chez certains animaux, comme la Méduse par exemple, et de 85,8 pour 100 pour le cerveau (substance grise) et pour les muscles de l'homme de 75,7 pour 100 en moyenne.

Toutefois, R. Dubois avait vu que l'alcool n'agit pas de même sur les organismes suivant qu'il est très dilué ou bien concentré, même administré en égale quantité, suivant surtout qu'il est donné par voie stomacale ou par injections sous-cutanées. En ce qui concerne l'ingestion stomacale, il démontra expérimentalement ce que n'ignoraient pas les buveurs, à savoir qu'une partie de l'alcool, quand il est assez dilué, subit une sorte de fermentation, de digestion stomacale qui le transforme en acide acétique. Les acétates alcalins formés ainsi dans le sang étaient brûlés dans les tissus et devenaient des

aliments respiratoires thermogènes. Ainsi s'expliquaient les divergences des partisans de l'alcool aliment thermique et de l'alcool antithermique, ainsi que l'immunité relative de l'abus des boissons fermentées, par rapport aux boissons distillées concentrées.

Mais si l'alcool, en vertu des lois de la dialyse, de l'osmose, pouvait agir en empêchant, en ralentissant seulement la pénétration de liquides aqueux nutritifs dans les cellules et même en provoquant l'exosmose de ces sucs nutritifs et de l'eau nécessaire au fonctionnement normal de la cellule, il n'en était pas moins certain qu'une certaine quantité d'alcool devait aussi, par voie d'échanges osmotiques, pénétrer dans le bioprotéon cellulaire. On savait même qu'il s'accumulait de préférence dans certains tissus, comme le foie et le cerveau. Pourtant, dans l'intoxication aiguë par les alcools ou par l'éther, ne dépassant pas les limites de l'ivresse ou de l'anesthésie, on ne découvrait aucune modification histologique de nature à expliquer les profondes modifications du fonctionnement normal survenant dans ces conditions.

C'est à ce sujet que R. Dubois rappela les curieuses expériences du physicien anglais Graham sur les colloïdes minéraux. En taillant de petits cubes de la substance gélatineuse, obtenue au moyen de l'hydrate de silice ou d'alumine, et en les plongeant dans l'alcool, la forme et la constitution colloïdale des petits cubes d'*hydrogèle* ne change pas, mais leur volume diminue parce qu'une petite quantité d'alcool a chassé, en se substituant à elle, une proportion relativement considérable d'eau. Mais, chose plus curieuse encore, si l'on transporte le cube d'hydrogèle devenu un cube d'*alcoogèle* dans un courant d'eau, peu à peu l'alcool est à son tour éliminé par l'eau en vertu d'une *action de masse*. Dans l'organisme la circulation du sang et de la lymphe joue le même rôle que le courant d'eau dans les expériences mémorables de Graham : les tissus qui avaient fixé de l'alcool, alors que les humeurs en étaient chargées, repassent de l'état d'alcoogèle à l'état d'hy-

drogèle, grâce à la suspension de l'apport de l'agent toxique et à son élimination progressive par le poumon et par les reins, notamment.

Les remarques faites par R. Dubois, à savoir que l'action inhibitrice comparée des alcools est en raison inverse de leur poids moléculaire, était corroborée par cette autre loi, due à Bécларd, que le pouvoir osmotique des liquides est en raison directe de leur chaleur spécifique. L'eau est le liquide qui possède la chaleur spécifique la plus élevée, et celle-ci est diminuée en raison directe de la quantité d'alcool qu'on lui ajoute et aussi des poids moléculaires des alcools employés. Pour abaisser dans une même mesure le pouvoir osmotique de l'eau ou d'un liquide aqueux nutritif, il faudra donc moins d'alcool amylique que d'alcool éthylique et moins d'alcool éthylique que d'alcool méthylique; il faudra encore moins d'éther puisque sa chaleur spécifique est inférieure à celle des alcools précités, d'où son pouvoir inhibiteur plus considérable. Il devait en être de même pour les autres liquides organiques neutres analogues, ce qui engagea R. Dubois à entreprendre sur l'action de ces derniers sur la substance organisée une série d'expériences, dont les principaux résultats ont été consignés dans de nombreuses notes ou mémoires que je vais analyser rapidement¹.

Tout d'abord, on peut lire, dans l'article *Alcools, Toxicologie générale* de Ch. Richet (*Grand Dictionnaire de Physiologie*) [17], la seule allusion suivante aux expériences de

¹ Ainsi qu'il a été dit dans l'Introduction, les premières expériences de R. Dubois furent faites au Laboratoire de la Clinique de Béhier, à l'Hôtel-Dieu de Paris, en 1870, elles furent interrompues pendant la guerre, leur auteur étant parti comme chirurgien aide-major aux armées; c'est pour ce motif que la publication de ces recherches n'eut lieu qu'en 1874. On trouvera les renseignements complémentaires qui ne sauraient trouver place ici dans le premier volume du *Grand Dictionnaire de Physiologie* de Ch. Richet, à l'article « Alcools » (p. 234-244) de R. Dubois. Mais le texte n'en fut pas publié intégralement; il fut privé de ses principales conclusions. Dans un article spécial : *Alcools (Toxicologie générale)* [17] Ch. Richet a développé ces conclusions, sans indiquer leur origine exactement.

R. Dubois : « R. Dubois (1870) avait émis l'hypothèse ingénieuse que l'alcool agit par sa force exosmotique en déshydratant les tissus. D'autre part Béclard avait montré que le pouvoir exosmotique est d'autant plus grand que la chaleur spécifique est moins élevée; et enfin, d'après les lois de Dulong et Petit, les chaleurs spécifiques sont en raison inverse des poids atomiques. En reliant ces trois lois l'une à l'autre, on voit clairement que plus le poids de la molécule s'élève, plus est accrue la puissance exosmotique (et par conséquent déshydratante) de la substance alcoolique. » C'étaient là les conclusions de R. Dubois.

D'autre part, les *Recherches expérimentales sur les alcools par fermentation* de Dujardin-Beaumetz et Audigé sont de 1879, c'est-à-dire postérieures à celles de R. Dubois.

Valentino [26], après avoir combattu les conclusions de R. Dubois sur l'action de l'alcool, fait quelques expériences qui prouvent l'exactitude de ces conclusions, et il les assimile, en constatant d'ailleurs (p. 84) que *toutes ces données sont parfaitement d'accord avec la clinique qui montre une énorme déshydratation de l'organisme, hypersécrétion de toute nature aboutissant à une concentration de sérum sanguin.*

Puis (p. 84), le même auteur ajoute : « le peu d'alcool qui passe dans la cellule nerveuse y exerce son action toxique, incoordination motrice, convulsions, etc. L'alcool qui persiste à l'entour des cellules détermine un courant cellulifuge de sérosités; l'apport de sérosités d'autres points de l'organisme tend à réparer les pertes d'eau que subit le protoplasme; c'est une action toute simple, basée sur d'élémentaires principes d'équilibre dans la constitution des humeurs, et on s'étonne vraiment que R. Dubois, pour expliquer la réparation des pertes d'eau, invoque l'existence d'un centre de déshydratation : hypothèse purement gratuite. » On a le droit de se demander où Valentino a pu trouver pareille conclusion dans les travaux de R. Dubois : c'est cette étrange affirmation qui est *purement gratuite*.

Des critiques de la théorie de R. Dubois sur le rôle de l'alcool et des anesthésiques généraux ont été formulées par Overton [24]. Elles sont mal fondées. Cet auteur admet bien que le phénomène de déshydratation intervient dans la narcose, mais il s'exercerait par l'accumulation de l'alcool dans les lipoïdes cérébraux dont il changerait l'état physique. Les plasmolipoïdes auraient pour action de régulariser les fonctions osmotiques des cellules animales et végétales. Il fait donc intervenir la question d'osmose, c'est-à-dire d'hydratation. Il prétend, à tort, que R. Dubois n'a pas tenu compte de l'accumulation des anesthésiques généraux dans les cellules chargées de lipoïdes, mais seulement de la déshydratation. C'est une erreur grave, il est à souhaiter qu'elle n'ait pas été voulue par son auteur. Sarvonat, d'ailleurs, en a fait justice [48]. « M. le « professeur Dubois, dit cet auteur, avait, en outre, vu depuis « longtemps que les anesthésiques se localisent sur les lipoïdes. « La majeure partie des vapeurs anesthésiques traversent le « blanc ou albumine de l'œuf, pour aller se condenser dans le « jaune ou vitellus, comme ferait une substance colorante ayant « plus d'affinité pour le noyau de la cellule que pour son proto- « plasme. Or, le vitellus de l'œuf se rapproche bien davantage « par sa composition chimique du tissu nerveux que l'albu- « mine, et il est possible que l'élection plus marquée des « anesthésiques généraux pour le tissu nerveux chez l'animal « vivant ne reconnaisse pas d'autre cause. »

En rapprochant ces faits de ceux qu'il avait observés sur les graines et sur les fruits (orange, moutarde, amande amère), et qui tous montrent l'action déshydratante des vapeurs anesthésiques, M. le professeur Dubois conclut que l'anesthésique général a une action déshydratante sur tout ce qui est vivant, mais agit principalement sur les éléments lipoïdes, où il se fixe de préférence. Ces remarquables conceptions, si frappantes dans leur fécondité et leur simplicité, étaient bien antérieures aux publications d'Overton. Quoique M. le professeur Dubois eut été très catégorique sur ce point, dans un travail qui a eu

une grande publicité [12] et que M. Overton connût les travaux en question, puisqu'il a combattu les idées de M. Dubois sur la déshydratation, mais, en passant sous silence ce qu'il avait dit de l'élection des anesthésiques généraux sur les lipoïdes, certains expérimentateurs français ont adopté les idées d'Overton qui ne sont en définitive qu'une reproduction incomplète de celles de M. Dubois puisqu'on en a retranché la déshydratation, qui est, en somme, le fait capital.

L'action exosmotique déshydratante des anesthésiques généraux, dans la catégorie desquels rentrent les alcools, a bien été mise hors de doute par les recherches de Stefanowska et Joteyko [18] sur les infusoires et les nerfs, par ceux de Fauré-Frémiet [29] sur *Glaucoma viridis*, puis par ceux de Lapique et Legendre, de Nageotte, etc.

Mais encore une fois R. Dubois n'a pas prétendu que l'action de ces agents se bornait à une simple déshydratation du protoplasme, ainsi que le prouvent les travaux que je vais maintenant analyser.

Ce qui précède pourra peut-être sembler en dehors de mon sujet et superflu : il n'en est rien pourtant, car la question de la localisation, de l'élection des vapeurs de liquides organiques neutres agissant sur la substance organisée, a, comme on le verra, une grande importance pour expliquer les phénomènes intimes du mécanisme de l'atmolyse qui, comme je l'ai dit, est née des recherches de R. Dubois sur l'action physiologique des alcools et des anesthésiques généraux.

Les faits consignés dans cette seconde partie de mon histoire de la question de l'atmolyse ont plus directement trait à la découverte de ce procédé d'analyse physico-chimique et physiologique.

En 1883, R. Dubois communique à la Société de Biologie un travail intitulé : *Recherches préliminaires sur le mode d'action de quelques liquides organiques neutres sur la substance organisée* [5]. « On a placé, dit-il, dans des cloches contenant « de l'air saturé : 1° De vapeurs de chloroforme ; 2° d'éther ;

« 3° d'alcool éthylique; 4° de vapeur d'eau seulement, des
« poires prises sur le même arbre, au même moment, dans
« un même état de maturité et à peu près de même poids.
« Quelque temps après, les poires placées dans l'air chloro-
« formé avaient pris une teinte feuille morte; celles qui étaient
« au contact de l'air éthéré n'ont pas tardé à subir la même
« modification, et enfin celles qui se trouvaient dans l'air
« alcoolisé n'ont acquis la même teinte brunâtre qu'au bout
« de deux ou trois jours.

« La coloration de celles qui avaient séjourné dans l'air
« simplement saturé de vapeur d'eau n'avait pas changé
« plusieurs jours après.

« A mesure que la coloration feuille morte s'accroissait
« davantage, on voyait sortir à travers l'épiderme des fruits,
« lequel ne semblait pas altéré, de grosses gouttes qui ne
« parurent être autre chose que de l'eau légèrement sucrée.
« Rien de semblable ne s'était produit pour les poires placées
« dans l'air humide. »

De ces premières observations R. Dubois tira les conclusions suivantes : les trois liquides organiques neutres expérimentés, chloroforme, éther, alcool, ont déterminé dans le parenchyme des fruits des altérations très analogues : 1° En ce qui concernait le changement de coloration, et 2° en raison de la perte dans les trois cas précités de l'exsudation d'une notable quantité de suc sucré. « Enfin, dit R. Dubois dans
« cette note, malgré la perte d'une certaine quantité de liquide
« sucré, les fruits modifiés par ces vapeurs possédaient encore
« une saveur sucrée *plus accentuée* qui rappelait celle des
« fruits cuits. Leur décocté, obtenu en faisant bouillir pendant
« longtemps leur tissu dans l'eau, réduisait une plus grande
« quantité de liqueur cupro-potassique que le liquide obtenu
« en opérant de la même manière sur le parenchyme des
« fruits conservés dans l'air humide qui, d'ailleurs, avaient
« un goût fade et un aspect farineux. »

En outre, il y avait lieu de noter que les altérations s'étaient

produites successivement, d'abord sur les fruits placés dans l'air chloroformé, un peu plus tard sur ceux qui se trouvaient dans l'air éthéré, et enfin, mais avec un intervalle de temps plus long que dans les deux premiers cas, sur les fruits placés dans l'air alcoolisé.

Au bout de trois mois, les fruits placés dans l'air saturé de vapeur d'eau ne paraissaient pas profondément modifiés : ils semblaient un peu plus mûrs seulement et des moisissures s'étaient développées à leur surfacé. Rien de semblable ne s'était produit dans les autres cloches, mais la teinte brunâtre des fruits était plus accentuée et la quantité d'eau perdue paraissait être plus considérable : les parois des cloches étaient couvertes de gouttelettes d'eau, ainsi que les fruits, et le coton sur lequel étaient posées les poires était imbibé de ce liquide.

Les fruits légèrement essuyés avec du papier de soie furent pesés; ils avaient perdu :

1°	Dans l'air chloroformé,	6,75	p. 100	de leur poids primitif.
2°	— éthérisé,	2,50	—	—
3°	— alcoolisé,	0,63	—	—
4°	— humide,	1,14	—	—

En réalité, la perte d'eau devait être plus considérable que celle indiquée par ces chiffres, car une quantité assez faible, il est vrai, de ce liquide, avait dû être remplacée par une quantité équivalente de vapeurs de liquides organiques qui avait pénétré dans le parenchyme, ainsi que l'indiquait l'odeur des fruits soumis à leur action.

On peut être d'abord surpris que les poires placées dans l'air humide aient perdu en poids plus que celles qui se trouvaient dans l'air alcoolisé, mais il convient de faire observer que les premières avaient mûri, ainsi que l'indiquait leur couleur, leur changement de consistance et la forte odeur de fruit qui s'était développée sous cloche : elles avaient vécu et, par conséquent, consommé une partie de leur propre substance; de

plus, une puissante végétation de moisissures s'était formée à leur dépens.

De ces observations, on pourrait encore tirer deux autres conclusions :

1° Dans un même temps, la quantité d'eau perdue par des fruits placés dans l'air saturé de vapeurs de liquides neutres indiqués plus haut a été moins considérable dans la vapeur d'alcool que dans celle d'éther, et moins encore dans celle-ci que dans celle de chloroforme.

Il n'y a pas lieu d'être surpris d'un semblable résultat si l'on admet que les vapeurs se comportent comme si les liquides agissaient directement sous forme liquide, puisque nous avons vu plus haut que l'action exosmotique, à laquelle la sortie de l'eau du parenchyme cellulaire doit être attribuée, est d'autant plus forte que sa chaleur spécifique est moins élevée. Or, la chaleur spécifique du chloroforme est moindre que celle de l'éther, et celle-ci plus faible que celle de l'alcool, tandis que l'eau est de tous les liquides neutres celui qui possède la chaleur spécifique la plus élevée : c'est d'ailleurs le seul liquide neutre qui soit indispensable à l'exercice des phénomènes élémentaires de la vie. On sait aussi que la chaleur spécifique des liquides organiques neutres varie en sens inverse de leur poids moléculaire.

2° L'action exosmotique des vapeurs agit bien dans le même sens que l'action directe des liquides, mais nous verrons bientôt que ces deux actions ne sont pas identiques sur les parenchymes quand nous comparerons l'*éthérolyse* à l'*atmolyse* par l'éther.

Ces expériences avaient encore été de la part de leur auteur l'objet d'une remarque intéressante. Aucune moisissure ne s'était développée sur les fruits placés dans les vapeurs d'alcool, d'éther et de chloroforme. En s'appuyant sur les idées théoriques qui l'avaient guidé dans ses expériences, R. Dubois disait que cela n'avait rien de surprenant, puisque, pour germer sur une poire, la spore de la moisissure avait besoin en

premier lieu d'absorber de l'eau, comme toute autre semence, même avant d'absorber de l'oxygène : or, les vapeurs considérées ayant une action déshydratante sur les cellules, les spores ne pouvaient germer dans ces conditions.

L'auteur put conserver ainsi pendant plusieurs mois, sous des cloches remplies de vapeurs d'éther, des pièces anatomiques et même des animaux entiers. La seule modification extérieure apparente était la perte d'une notable quantité de liquide par exsudation. Celui qui s'échappait au travers des muqueuses était coloré en rouge par l'hémoglobine, mais ne contenait aucun élément figuré. On put même, dans ces cloches, conserver du sang. Dans ces conditions, les globules rouges n'étaient pas détruits ; ils paraissaient seulement rétractés et avaient été dépouillés de leur hémoglobine. On avait obtenu déjà facilement l'hémoglobine cristallisée du sang de divers animaux par son mélange direct avec l'éther.

Dès cette époque, R. Dubois avait fait remarquer qu'il avait trouvé ainsi un procédé d'embaumement et de momification ne ressemblant en rien à ceux qui avaient été mis jusqu'à cette époque en usage, en ce sens qu'il ne nécessitait ni injection intravasculaire, ou autre, ni immersion dans un liquide et qu'il était d'un prix extrêmement modique. Ce fut le point de départ du *Procédé d'embaumement et de momification à l'air libre* imaginé par R. Dubois et décrit dans un mémoire qui fut lu à l'Académie de Médecine par Brouardel, le 30 décembre 1890 [12]. Dès cette époque, R. Dubois faisait remarquer que l'emploi des liquides organiques neutres avait le grand avantage de n'introduire aucune substance toxique pouvant gêner les expertises médico-légales.

Dans un mémoire ultérieur intitulé : *Expériences relatives à l'action de quelques liquides organiques neutres sur la substance organisée* [5], R. Dubois rappelle qu'il a déjà établi expérimentalement que les fruits placés dans les vapeurs d'alcool, d'éther et de chloroforme perdent une certaine quantité de suc aqueux : *il ne s'agissait donc pas simplement d'eau*

pure. En outre, il y a augmentation de la densité, malgré la perte de poids résultant de l'exsudation du suc. Le tissu parenchymateux des fruits se contracte, de sorte que, si l'on plonge dans l'eau les fruits qui ont séjourné dans l'air humide et ceux qui ont été modifiés par les vapeurs organiques, les premiers surnagent, tandis que les autres tombent au fond du vase. Ce changement de densité s'explique facilement. Quand on fait une coupe du fruit et qu'on l'examine au microscope, on constate que les méats intercellulaires, jadis remplis de gaz, qui donnaient au tissu une teinte blanc mat, se sont gorgés de liquides évidemment sortis des cellules par exosmose, car celles-ci ne paraissent avoir subi d'autre modification qu'une légère rétraction.

R. Dubois fait remarquer à ce propos que les fruits chloroformés, éthérisés, ou alcoolisés par les vapeurs de ces liquides, prennent l'apparence de fruits *gelés* ou *cuits*. Ils deviennent translucides, tandis que ceux qui ont séjourné dans l'air humide conservent une teinte blanc mat qui va s'accroissant avec le temps. Enfin, malgré la perte d'une certaine quantité de suc sucré, ces fruits étaient plus sucrés que ceux restés dans l'air humide, et le produit de leur décoction réduisait une plus forte proportion de liqueur cupro-potassique.

On sait que certains parenchymes féculents, la pomme de terre, par exemple, prennent par la gelée une saveur sucrée. Ce fut le point de départ de comparaisons que R. Dubois devait développer plus tard entre le mécanisme d'action des anesthésiques locaux ou généraux et celui du froid, en même temps qu'il faisait connaître le mécanisme intime du gel sur les tissus végétaux et animaux, qui devait être retrouvé plus tard par certains botanistes ignorant probablement les travaux antérieurs de R. Dubois [25-36-43].

Ce sont ces mêmes recherches qui furent aussi l'origine de la découverte du forçage des plantes par les anesthésiques généraux [30].

En raison du brunissement des fruits en expérience, R. Du-

bois chercha, sans y parvenir, à mettre en évidence la formation d'acide gallique ou pyrogallique, où bien encore d'un produit indiquant une caramélisation du sucre normal, sous l'influence de l'action de l'éther se comportant, dans ces circonstances, comme agent de déshydratation. Dans ce mémoire R. Dubois fait bien remarquer qu'il ne s'agit pas, dans l'action des vapeurs de liquides organiques neutres sur la substance organisée, d'une simple déshydratation, comme l'a dit plus tard, le professeur Dastre, à propos de l'extraction du ferment hépatique par l'atmolyse.

Les animaux conservés pendant très longtemps sous les vapeurs d'éther prennent une odeur de graisse rance, et l'on trouve, dans le péritoine des cristaux solubles dans le chloroforme, l'éther et l'alcool présentant les principaux caractères des corps gras. R. Dubois constate, en outre, que les vapeurs d'éther chassent l'hémoglobine du globule sanguin qui conserve à peu près sa forme et son volume, mais se décolore complètement.

« Ainsi, dit R. Dubois, de même que ces vapeurs possèdent
« la propriété d'attirer au dehors le *suc* des fruits, de même
« on les voit ici exercer une action analogue sur le principal
« élément du globule sanguin, l'hémoglobine », et il ajoute :
« Ce qu'il y a de plus surprenant, c'est que ce sont précisé-
« ment les principes immédiats, insolubles dans le chloro-
« forme, l'éther ou l'alcool, qui sont chassés de l'élément
« anatomique par les vapeurs de ces mêmes liquides. »

Et, pour bien marquer qu'il ne s'agit pas d'une simple déshydratation, R. Dubois ajoute plus loin : « On peut s'assurer qu'il
« en est toujours ainsi (exsudations de principes immédiats)
« par une expérience bien simple. Il suffit de suspendre un
« morceau de muscle dans un flacon bouché au fond duquel
« se trouve un de ces liquides, on verra bientôt tomber goutte
« à goutte un liquide chargé de divers principes non déter-
« minés encore, mais qui ne se mélangent pas au liquide
« générateur des vapeurs. »

Dans ce mémoire, R. Dubois relate encore des expériences qui montraient que les vapeurs d'éther provoquent sur des cobayes une exsudation de sérosité sous-épidermique et que l'introduction des liquides organiques neutres dans le tube digestif n'y produit rien de semblable, mais permet facilement d'obtenir la momification de petits animaux. Les matières albuminoïdes des tissus préalablement soumis à l'action des vapeurs d'éther se dessèchent à l'air libre, sans élévation de température, avec une remarquable facilité. Il recommande l'emploi de liquides organiques neutres dans les morgues et les amphithéâtres de dissection, comme moyen de conservation pour remplacer l'action du froid, et aussi de dessiccation pour préparer à la crémation, et permettre de la réaliser économiquement et rapidement.

En 1883 également, R. Dubois relate de nouvelles expériences dans un mémoire à la Société de Biologie intitulé : *Note sur l'action de quelques liquides organiques neutres sur la substance organisée* [6].

Dans ce mémoire, l'auteur rappelle qu'il a déjà montré que par les vapeurs d'alcool, d'éther, de chloroforme, en même temps que les tissus perdent de l'eau, ces dernières provoquent des mouvements, des déplacements dans ces tissus de liquides primitivement contenus dans des cellules séparées, et qu'il en résulte non seulement des réactions anormales, mais encore des dédoublements, par un mécanisme analogue à celui de la *dissociation*. Il avait noté, en particulier, l'apparition dans les interstices cellulaires de cristaux que l'on n'observe pas dans les conditions ordinaires.

R. Dubois rapporte dans ce mémoire les résultats obtenus en substituant des oranges aux fruits employés dans ses premières expériences. L'endocarpe des oranges est garni de grosses cellules allongées, gorgées d'un suc acide et sucré qui ne se trouve pas dans les autres parties du fruit à l'état normal. Les vapeurs anesthésiques font sortir ce suc qui rencontre d'abord le mésocarpe feutré et amer, l'en imbibe comme une

éponge. Si l'action se prolonge, le suc de l'endocarpe, qui s'est imprégné de certains principes rencontrés dans le mésocarpe, franchit l'épicarpe sous formes de gouttelettes qui tombent dans le récipient situé au-dessous de l'entonnoir supportant le fruit (v. fig. 1, p. 56). En outre, R. Dubois constate qu'il se montre dans l'endocarpe et jusque dans le mésocarpe des cristaux. Il se demande comment se forment ces cristaux : est-ce par des réactions chimiques résultant de l'entraînement et du mélange des substances en dehors de leurs cellules respectives? Est-ce par simple concentration de celles-ci, ou bien parce que la solubilité de certains principes immédiats se trouve diminuée par la présence des anesthésiques? C'est ce qu'il se propose de rechercher ultérieurement.

Entre temps, il constate que les grosses cellules de l'endocarpe ne présentent aucune déchirure, aucun éclatement, ce qui prouve bien qu'il s'agit d'un phénomène osmotique et c'est surtout cette constatation qui le conduira plus tard à expliquer le mécanisme de l'action du froid, du gel chez les végétaux, car ces oranges ressemblent à des oranges qui auraient été gelées [25 et 33].

Contrairement à ce qu'il avait observé sur les poires, il constate que toutes les oranges ont augmenté de poids, fait qu'il avait déjà constaté sur les œufs de poule. Il attribue cette différence à la résistance plus grande opposée par la peau de l'orange et la coque des œufs à la sortie des sucs. Ces remarques conduisent R. Dubois à penser que l'on pourrait provoquer dans les parenchymes cellulaires des réactions qui ne se montrent pas dans les conditions ordinaires. A cet effet, il place dans deux cloches respectivement des semences de moutarde légèrement imbibées d'eau. Dans l'une des cloches, il n'y a que de l'air, et dans l'autre de l'air saturé de vapeurs d'éther. Au bout de peu de temps, les graines de moutarde contenues dans cette dernière dégageaient une forte odeur de moutarde, tandis qu'on ne constatait rien de semblable dans la cloche témoin, où les graines s'étaient couvertes d'une

légère couche de moisissures et n'avaient pas tardé à germer. (Ces expériences étaient faites en avril-mai) [6.]

Cette expérience montrait d'abord que le sulfocyanure d'allyle, résultant de l'action de la myrosine sur le myronate de potassium, ne se forme pas pendant la germination, à moins qu'il ne soit détruit au fur et à mesure de sa formation, ce qui est peu probable. En tous cas, la germination a été définitivement empêchée dans les graines où le sulfocyanure s'était montré en quantité notable, et elle n'a pas eu lieu davantage après une exposition à l'air libre suffisante pour éliminer l'éther absorbé par la graine. C'est bien au sulfocyanure d'allyle qu'il convient d'attribuer la perte du pouvoir germinatif, puisque Réveil a démontré que l'essence de moutarde, même à l'état de dissolution au millième, est un violent poison pour les végétaux, sans excepter ceux qui appartiennent à la famille des crucifères. R. Dubois dit textuellement : « *Ainsi*
« *donc on peut voir, sous l'influence de vapeurs anesthési-*
« *ques, se produire, dans certains tissus, des composés qui*
« *ne s'y forment pas spontanément dans les conditions nor-*
« *males.* »

« Bien plus, ces composés peuvent être des poisons violents
« pour les tissus au sein desquels ils ont pris naissance, de
« sorte que, dans le cas où la vapeur anesthésique n'aurait pas
« elle-même d'action toxique, sa présence seule pourrait déter-
« miner, par voie indirecte, la mort de la graine. » Et
R. Dubois ajoute : « Nos expériences nous ont démontré que
« ce n'était pas là une propriété spéciale de la semence de
« *Sinapis nigra*, car nous avons obtenu de la même manière
« la formation d'essence d'amandes amères et d'acide cyanhy-
« drique dans des feuilles de Laurier-cerise et dans les amandes
« amères. Ces composés sont, comme on le sait, des poisons
« de la cellule végétale aussi énergiques que l'essence de mou-
« tarde, et les réflexions que nous avons faites à propos de
« celle-ci peuvent s'appliquer ici. » Postérieurement aux
recherches de R. Dubois, Coupin confirma que les graines ne

perdaient pas le pouvoir germinatif quand elles avaient été soumises *sèches* à l'atmolyse.

Il n'est peut-être pas inutile de faire remarquer que ces réactions ne se produisent pas quand on traite directement par l'éther la poudre ou la semence de moutarde sèches. Ce fait a été confirmé beaucoup plus tard par Coupin. Je l'ai observé moi-même à la suite de mon expérience n° 4 (voir plus loin) sur les graines et fruits oléagineux. Il faut donc admettre qu'une certaine quantité d'eau appartenant aux tissus sort des cellules en même temps que les composés qui, par leur contact, donneront naissance aux essences d'amandes amères, de moutarde, à l'acide cyanhydrique et aux autres produits qui se forment par l'action de l'émulsine et de la myrosine sur l'amygdaline et sur le myronate de potassium.

Parmi ces produits se trouve le glucose et il n'est pas impossible, ce que j'aurai à rechercher dans mon travail, que la saveur sucrée, signalée par R. Dubois dans les fruits éthérisés, provienne du dédoublement de certains glucosides au moment de la maturation des fruits, des tubercules sucrés, etc.

En tous cas, il est curieux de constater que l'action exosmotique de la vapeur d'éther permet de faire sortir, des éléments respectifs qui les contenaient à l'état normal, des colloïdes zymasiques, d'une part, et des glucosides, d'autre part, pour les mettre en présence et provoquer, à la faveur de l'eau exsudée, des réactions qui n'ont pas lieu lorsque les tissus ne sont pas préalablement hydratés, dans les graines sèches, par exemple. C'est un point sur lequel j'aurai à revenir à propos de l'atmolyse des semences oléagineuses.

En 1884, R. Dubois avait présenté à la Société de Biologie un nouveau mémoire intitulé : *De la déshydratation des tissus par le chloroforme, l'éther et l'alcool* [9]. Après avoir rappelé les expériences qu'il fit en 1870 à l'Hôtel-Dieu de Paris et qui l'avaient conduit à attribuer principalement à la déshydratation des tissus l'action des alcools et, plus tard, celle des anesthésiques généraux, il répéta devant la Société de Biologie

la mémorable expérience qui consistait à faire transpirer, sous forme de gouttelettes, le suc des feuilles d'une plante crassulacée (*Echeveria glabra*) placée sous une cloche renfermant des vapeurs de chloroforme. Les vapeurs d'éther et d'alcool produisaient le même résultat, mais moins rapide. Les pesées ont montré que l'eau éliminée ainsi était remplacée par une certaine quantité de chloroforme, d'éther, d'alcool, variable avec chaque agent, mais toujours de beaucoup inférieure à la quantité d'eau perdue.

Mais R. Dubois a soin d'ajouter : « En réalité, le liquide « ainsi excrété *n'est pas de l'eau absolument pure*, elle contient de très faibles proportions de différents matériaux « solides que nous n'avons pas encore étudiés. » En soumettant des œufs frais à l'action des vapeurs anesthésiques, R. Dubois a vu des gouttelettes sourdre à travers la coquille elle-même, mais il a fait en outre une constatation importante signalée dans ce même mémoire et dont j'ai déjà parlé dans la première partie de cet historique, à savoir que les vapeurs de chloroforme traversent le blanc de l'œuf pour aller se fixer principalement sur le jaune par un phénomène d'élection important à retenir sur lequel j'ai déjà insisté.

Et, si j'ai développé aussi longuement les expériences et les découvertes de M. Dubois, qui devaient le conduire à la découverte de l'atmolyse, c'est que des auteurs, qui se sont occupés comme lui des mêmes questions, ne lui ont pas rendu toute la justice à laquelle il avait droit.

C'est ainsi que M. Marcel Mirande, dans une note parue dans les Comptes rendus de l'Académie des sciences (12 juillet 1909) [34], ne fait pas mention des travaux de R. Dubois, lorsqu'il parle de l'action du chloroforme sur les feuilles de *Prunus Laurocerasus*, et sur un grand nombre d'autres plantes dont l'énumération est ici inutile, et qu'il constate la production d'acide cyanhydrique avec les feuilles fraîches, alors qu'avec des feuilles sèches cette production ne se manifeste pas. Il y a lieu de supposer qu'à ce moment M. Marcel

Mirande ignorait les recherches de M. Dubois. Mais il est plus regrettable encore que M. le professeur Heckel, qui connaissait certainement ces travaux, ait cru devoir, dans sa note publiée dans le numéro du 15 novembre 1909, des Comptes rendus de l'Académie des sciences [32], passer sous silence les observations de R. Dubois, et attribuer à M. Guignard et à M. Mirande le « *mérite d'avoir démontré que, sous l'influence du gel et des anesthésiques, il peut se former de l'acide cyanhydrique et d'autres dédoublements de glucosides.* » M. Heckel se contente de dire : « *Ce sont là, à plusieurs égards, des résultats du plus haut intérêt* », et il ne pouvait pas ignorer la note publiée par R. Dubois en 1902 dans les Comptes rendus de l'Académie des sciences [25], dans laquelle l'auteur insiste *de nouveau* sur l'analogie du mécanisme du gel et des vapeurs anesthésiques. Il suffit de se reporter aux notes bibliographiques sur la question pour demeurer convaincu que l'attribution de cette découverte par Heckel à d'autres savants qu'à Dubois constitue une grave erreur.

M. Paul Deroche, de son côté, dans une note à la Société de Biologie [43], dit qu'il n'est pas douteux que le gel provoque un départ d'eau. Matruchot et Molliard [43] ont également étudié les effets du gel sur la structure des cellules végétales, mais tous ces travaux sont postérieurs à ceux de R. Dubois et ne font que confirmer ses découvertes.

Avec *Liatris spicata*, avec la Flouve odorante (*Anthoxanthum odoratum*), avec le Mélilot, Heckel a vu, comme MM. Guignard [33] et Mirande, que le phénomène de dégagement rapide ou retardé de l'odeur de coumarine ou de Mélilot est accompagné de plasmolyse : « l'examen des tissus, soit gelés, soit anesthésiés m'a montré, dit-il, que le sac protoplasmique des cellules est détaché de la membrane cellulaire et plus ou moins contracté. » Il a constaté la généralité du phénomène dans quelques crucifères, notamment dans *Lepidium latifolium*, *Cochlearia armoricia* (formation d'essence de moutarde), *Diploxaxis tenuifolia* avec odeur de

roquette très particulière; « le phénomène essentiel (plasmolyse) est commun à tous les cas envisagés, *c'est le résultat dominant de ces recherches* ». Il n'est en aucune façon question de la découverte de M. R. Dubois.

Le 11 juillet 1910, Heckel fait paraître, dans les comptes rendus de l'Académie des sciences, une note intitulée : *De l'action du froid et des anesthésiques sur les feuilles de l'Angræcum fragrans Thou (Faham) et sur les gousses vertes de Vanille* [37].

Il constate là même succession de phénomènes que dans sa note du 19 novembre 1909, sur des pieds d'*Angræcum fragrans* avec le chlorure de méthyle, l'éther et le chloroforme.

Une gousse encore verte de vanille n'a pas donné d'odeur avec le chloroforme et l'éther; il y a eu sudation, mais non changement de couleur.

Une gousse présentant un point jaune à son sommet, plus mûre par conséquent, a, en deux heures, donné une odeur manifeste de vanilline, il y a eu sudation et son sommet a noirci sur une longueur de 3 centimètres. Au bout de vingt-quatre heures, la couleur chocolat est totale, l'odeur de vanilline accrue et l'aspect est le même que celui d'une gousse traitée par les procédés commerciaux. Il n'a rien obtenu avec le froid à la glacière et attribue cela à la destruction des ferments par le froid.

Il est évident que ce n'est pas là l'explication véritable, mais simplement parce que le froid à la glacière n'a pas été assez fort pour produire l'exosmose due au gel. Il y a eu pourtant sudation aqueuse, mais le froid n'a altéré ni la couleur, ni l'odeur des gousses en voie de maturation. Les ferments ne seraient donc en état d'agir qu'au moment de la maturation commençante. Il pense que le changement de couleur n'est pas dû à la déshydratation, mais à l'action des ferments : avec l'éther on économiserait beaucoup de temps dans la préparation de la vanille et on éviterait les moisissures.

R. Dubois avait depuis longtemps entretenu Heckel de ses

travaux, en particulier sur la Vanille, et, le 12 juillet 1909, avait paru dans les comptes rendus de l'Académie des sciences une note de Guignard, intitulée : *Influence de l'anesthésie et du gel sur le dédoublement de certains glucosides chez les plantes* [33].

Dans ce travail L. Guignard rappelait ses expériences sur les cactées, sur les plantes à myronate de potassium et à amygdaline. Il mentionnait que ses expériences *confirmaient celles de R. Dubois*. L'odeur de moutarde sous l'action du chloroforme se développait sur des plantules entières de *Sinapis nigra* âgées d'une huitaine de jours et aussi bien avec les plantes vertes qu'avec les plantes étiolées. Guignard avait aussi constaté, après R. Dubois, que le gel produit le même effet que l'anesthésique.

Il a obtenu le même résultat avec les feuilles de Raifort, avec celles de Laurier cerise, de *Photinia*, de Sorgho, de Passiflore; il y avait là un dégagement d'acide cyanhydrique sans aucune rupture de cellules.

Avec *Gaultheria procumbens*, le gel et l'anesthésique font apparaître l'odeur de winter-green.

« Il y a là, en somme, disait Guignard pour conclure, une *méthode générale* de recherches de certains composés dont la formation résulte de l'action réciproque d'un ferment et d'un glucoside, arrivant au contact l'un de l'autre par l'intermédiaire de l'eau ¹ ».

¹ J'ai fait moi-même les expériences suivantes : des feuilles fraîches de Pêcher (*Prunus persica* L.) ont été, 10 minutes après leur récolte, traitées comme suit : 1° Sur la moitié supérieure d'une feuille j'ai projeté du chlorure d'éthyle. En une minute environ, la partie atteinte par le jet se recouvre d'une espèce de givre dû au gel de l'eau exsudée. Après fonte de cette glace, une odeur d'amande amère se produit, et un morceau de papier picrosodique appuyé sur la partie humide est rapidement impressionné. La feuille, exposée au soleil, est devenue brune dans sa partie soumise à l'action du chlorure d'éthyle, et cette même partie a été morte et sèche en quelques minutes, alors que la partie inférieure a conservé ses caractères organoleptiques, sauf une légère flétrissure. 2° Trois de ces mêmes feuilles ont été exposées, dans des tubes bouchés, à l'action des vapeurs de chloroforme, d'éther anesthésique,

Malgré l'honnête rappel des expériences de Dubois par Guignard, on n'en persiste pas moins à simuler l'ignorance des expériences de Dubois.

M. Guérin, professeur agrégé à l'Ecole supérieure de pharmacie de Paris, fait paraître dans le compte rendu de l'Académie des sciences une note intitulée : *L'action des anesthésiques, du froid et des rayons ultra-violets sur certaines plantes* [36].

« Le Gel, dit Guérin, les anesthésiques, les rayons ultra-violets produisent les mêmes effets que le broyage sur les plantes où les essences ne sont pas préformées, ainsi qu'il résulte des recherches de Guignard, de Mirande, d'Heckel, de Maquenne, Dumoussy et de Pouguet.

« En réalité, le contenu cellulaire subit, dans ces conditions, une véritable déshydratation, puisqu'une partie du liquide passe à l'extérieur de la cellule. Dans le cas de la Moutarde noire et du Raifort, le myronate de potassium est entraîné avec l'eau qu'il tient en dissolution et arrive au contact de la myrosine localisée dans les cellules spéciales d'où dédoublement du myronate et formation d'essence de moutarde.

« Si l'on examine au microscope les tissus anesthésiés, on

de benzine cristallisable, à côté d'un morceau de papier picro-sodé. Deux heures après, la nervure médiane a commencé à jaunir, et le papier a été impressionné légèrement. La coloration rouge est allée en s'accroissant, jusqu'au lendemain, mais avec une intensité variée. C'est dans les vapeurs d'éther que la coloration a été la plus accentuée; vient ensuite la benzine, puis le chloroforme.

Malgré l'odeur vive des liquides volatils, une odeur très perceptible d'essence d'amande amère se manifeste à l'ouverture des tubes. L'exsudation, commencée une heure environ après l'exposition dans les vapeurs, n'a donné lieu à aucun écoulement de liquide aqueux dans le fond du tube. Les feuilles avaient simplement un aspect luisant et humide, et une légère buée s'était formée sur la partie interne supérieure du tube. La couleur verte des feuilles paraissait accentuée tout d'abord, puis a fait place à une coloration chocolat ayant débuté sur les bords. Les feuilles, retirées après trente-six heures des atmolyseurs improvisés, se sont séchées très rapidement par une exposition au soleil et elles sont devenues très friables, alors que des feuilles témoin étaient à peine flétries.

constate que les cellules ont subi la plasmolyse ; leur sac protoplasmique est détaché de la membrane cellulaire et plus ou moins contracté.

« On peut provoquer l'apparition d'acide cyanhydrique par le chloroforme sur des feuilles attendant à l'arbre, et, si l'on ménage l'action du chloroforme, on peut conserver la feuille vivante ¹ ».

« Cette méthode aussi sûre que simple, qui supprime la macération préalable et la distillation, opérations plus ou moins longues et compliquées, peut rendre de grands services pour déceler la présence de l'acide cyanhydrique dans les végétaux. Avec une seule feuille de Laurier-cerise dans un tube de chloroforme, en moins de trois minutes le papier picro-iodé est coloré assez fortement ; en 10 minutes il est complètement rouge. Avec une feuille de *Photinia serrulata* Linde (Rosacées), il est impressionné en 3 minutes d'une façon très appréciable, etc. »

« Le gel lui aussi détermine un appel d'eau en dehors des cellules végétales : l'eau passe par diffusion à travers la couche périphérique du protoplasma et la membrane cellulaire. Le gel étant corrélatif d'un appauvrissement en eau du cytoplasme, la mort par le gel est une mort par déshydratation, rien d'étonnant que dans ces conditions le gel produise le même effet que l'anesthésie. »

Cette assimilation du mécanisme intime du gel et des anesthésiques généraux appartient bien à Raphaël Dubois, car, avant ses recherches, il n'avait jamais été question de déshydratation par plasmolyse, mais seulement d'éclatement produit par le gel et entraînant une perte d'eau par le dégel.

Une feuille de raifort, que l'on soumet dans un tube au refroidissement par le chlorure de méthyle ou sur laquelle on

¹ Cette expérience de Guérin réduit à néant l'opinion d'Overton, qui attribuait à la mort de la cellule les effets produits par les vapeurs anesthésiques signalés par R. Dubois.

pulvérise directement ce dernier, prend le même aspect que sous l'influence du chloroforme, et dégage bientôt, quand la température a remonté, une odeur extrêmement intense d'essence de moutarde.

Il cite la production par le même procédé d'acide cyanhydrique par le Laurier-cerise, le Sorgho, les Passiflores. Le *Gaultheria procumbens* donne du salicylate de méthyle.

« En somme, dit Guérin, les travaux de Guignard et de Mirande, dont nous venons de rappeler les principaux résultats (mais il passe sous silence ceux de Dubois), nous mettent en possession d'une méthode générale de recherches de certains composés dont la formation résulte d'une véritable plasmo-lyse, avec appauvrissement en eau du cytoplasme et exosmose de cette eau qui amène, au contact l'un de l'autre, ferment et glucoside. »

Des observations faites sur l'action du gel, il y a longtemps, par M. Guignard, à la suite des gelées d'automne dans le Jardin du Luxembourg de Paris, où *Ageratum mexicanum* Sims. est fréquemment cultivé dans les plates-bandes, furent le point de départ de ses recherches sur l'action des anesthésiques et du gel sur les crucifères et les plantes à acide cyanhydrique, recherches ne devant être publiées que beaucoup plus tard : elles sont de beaucoup postérieures à celles de M. R. Dubois et absolument dans le même ordre.

En 1888, Mölish avait observé que l'odeur de coumarine prend naissance sous l'influence du gel chez *Ageratum mexicanum* Sims., mais les principes ainsi formés ne donnaient de la coumarine, d'après l'auteur, que par une action secondaire, probablement une oxydation.

« Disons, ajoute Guérin, que les mêmes causes qui donnent lieu à la cyanogénèse et à la production d'essences sulfurées chez les crucifères provoquent, également, comme l'ont montré L. Maquenne et E. Demoulin, le noircissement des feuilles.

« Là aussi la modification du protoplasma (que ce soit par

traumatisme, sous l'influence de la gelée, des anesthésiques ou des rayons ultra-violets) dans un certain nombre de cellules qui alors échangent librement leur contenu, rend possible la mise en contact de deux principes isolés au cours de la vie normale, une diastase, par exemple, et le composé mélanogène. Du mélange accidentel d'une oxydase avec un principe tel que la tyrosine, résulte aussi pour la feuille un noircissement qui rentre bien dans la catégorie des actions diastasiques. C'est là le cas le plus général, mais il peut arriver cependant que le noircissement s'effectue sans le concours d'aucune diastase et qu'il ait une origine purement chimique. De toutes façons, que le noircissement des feuilles soit d'origine diastasique ou non, il procède d'un mécanisme absolument comparable à celui qui donne lieu au principe odorant des crucifères et des plantes à acide cyanhydrique et à coumarine. »

Question des rayons ultra-violets à part, on ne pouvait copier plus fidèlement les conclusions tirées par R. Dubois de ses expériences antérieures de vingt-sept années à celles de Guérin. Il ne semble pas même que Guérin ait fait preuve d'originalité à propos de l'action des rayons ultra-violets sur les parenchymes végétaux. En effet, si l'on se reporte au travail de Pouguet auquel il fait allusion dans sa note, on voit que ce dernier a, avant Guérin, assimilé l'action des U.-V. à celle du froid et des anesthésiques [39]. Mais Pouguet, concluant comme Mirande et Heckel, attribue à tort à ce dernier, à Guignard et à Mirande, la plasmolyse par les anesthésiques et le froid, produisant le dédoublement des glucosides avec production de substances odorantes.

« Les rayons ultra-violets, dit Pouguet, produisent les mêmes effets. L'examen microscopique a montré que le protoplasme était mortellement atteint, tandis que les ferments résistaient et accomplissaient leur travail de dédoublement du glucoside pour donner l'essence correspondante. L'action des rayons ultra-violets est donc comparable à celle des agents

mortels (froids, anesthésiques) : il y a mort de la cellule et l'odeur qui se dégage n'est que la conséquence de cette destruction cellulaire. »

En cela, Guérin n'est pas d'accord avec Pouguet puisqu'il dit dans son travail que, « si l'on ménage l'action du chloroforme, on peut conserver la feuille vivante attachée à l'arbre, et obtenir cependant la production d'acide cyanhydrique. »

Il n'est donc pas indispensable que l'action soit poussée jusqu'à la mort du protoplasme.

Faute d'indications bibliographiques, je n'ai pu retrouver les travaux de Maquenne et de Demoussy cités par Guérin. Il est vraisemblable qu'ils n'ajoutent rien à ce qu'avait annoncé R. Dubois qu'ils n'ont probablement pas plus cité que les auteurs précédents, car ces derniers les auraient vraisemblablement rappelés.

Dans une lettre, qui n'avait rien de confidentiel, adressée par M. Guignard, alors directeur de l'Ecole supérieure de Pharmacie de Paris, le 30 décembre 1910 à M. Raphaël Dubois et que ce dernier a bien voulu me communiquer, on peut lire le passage suivant : « Vous avez pleinement raison de n'être pas satisfait du silence que l'on fait trop souvent sur vos travaux. C'est pourquoi j'ai dit aujourd'hui à notre agrégé Guérin qu'il avait tort de ne pas rendre à César ce qui est à César... » et plus loin il cite un passage de sa note du 12 juillet : « l'essence de moutarde se produit dans les mêmes conditions expérimentales que l'acide cyanhydrique. Ce résultat est dû à l'action générale que le chloroforme exerce sur le protoplasme de la cellule vivante : elle est indépendante de la chlorophylle et n'a rien de commun avec la transpiration normale. *C'est un fait sur lequel Raphaël Dubois a depuis longtemps attiré l'attention dans ses recherches sur les anesthésiques.* » Cette année 1910 devait encore sous d'autres rapports être fertile en revendications de priorité de la part de Raphaël Dubois.

M. Permillieux publie dans les Comptes rendus de la Société de Biologie, le 18 janvier 1910, une note intitulée : *Recherche du ferment amylolytique dans le foie* [40]. Il annonce que par les vapeurs du chloroforme il a obtenu un liquide saccharifiant l'amidon avant ébullition, et non après. Il n'a pas trouvé de sucre dans le liquide « plasmolysé » et suppose qu'il y a un ferment glycolytique qui le détruit à mesure. Le même jour, le professeur Dastre présente un travail intitulé : *De la dialyse comme procédé de recherche des ferments endocellulaires* [21].

« Le ferment hépatique, dit-il, est un ferment « endocellulaire. J'ai pensé que la dialyse chloroformique « pourrait être un des moyens de les séparer ¹.

« Depuis 1898, j'ai fait exécuter par mes élèves quelques « tentatives dont il semble que celle de M. Permillieux ait « partiellement réussi. »

« On sait en quoi consiste le phénomène de la dialyse « chloroformique. Un tissu animal ou végétal exposé aux « vapeurs de chloroforme, d'éther, et, laisse exuder une quantité de liquide plus ou moins abondante. C'est ce qu'en fait « M. R. Dubois a appliqué à l'explication de l'anesthésie : il « l'a nommé *déshydratation chloroformique*.

« Mais ce n'est pas une simple déshydratation, le liquide « exsudé n'est pas de l'eau pure, c'est le suc cellulaire. L'exoplasme, en effet, n'est héli-perméable qu'au début de « l'opération et pendant très peu de temps; il laisse passer « ensuite des substances diverses : il se comporte comme un « filtre ou un dialyseur. »

Dans une note à la Société de Biologie [20] intitulée : *La dialyse cellulaire par les vapeurs de liquides organiques neutres*, M. R. Dubois réclame la priorité de la découverte.

Il est de toute évidence que M. R. Dubois n'a jamais dit ou

¹ Qui donc, avant R. Dubois, avait parlé de dialyse chloroformique, ou plutôt du phénomène que M. Dastre désigne sous ce nom ?

écrit que le liquide exsudé est de *l'eau pure*, qu'il s'agit d'une simple déshydratation.

Le mot de *suc cellulaire*, *suc aqueux*, etc., a été souvent employé par R. Dubois, et il a souvent aussi employé le mot *déshydratation*; cela ne signifie nullement qu'il croyait que l'exsudat était de l'eau pure, mais que pour lui le fait prépondérant, dominateur, était dans le mécanisme de l'anesthésie par les alcools, l'éther, le chloroforme, etc., la déshydratation du protoplasme. Ce qui permettait de faire des rapprochements entre l'action intime des divers anesthésiques généraux et du froid, employé aussi pour l'anesthésie locale, de la vie latente et même du sommeil hivernal.

D'après M. Dastre, M. R. Dubois n'aurait pas employé la dialyse chloroformique à l'extraction des ferments endocellulaires; mais il aurait exprimé, en théorie, les opinions nettement contraires à cette application. On chercherait vainement la justification de cette assertion dans les travaux de R. Dubois. On y trouverait, en revanche, qu'il est souvent question de la sortie de certains ferments zymasiques, tels que l'émulsine, la myrosine ou synaptase des cellules où elles étaient cantonnées avant l'action des vapeurs anesthésiques.

M. Dastre aurait pu rappeler les expériences faites par M. R. Dubois, l'action des vapeurs anesthésiques sur le foie, dont les résultats avaient été consignés par ce dernier dans une communication de la Société de Biologie intitulée : *Note pour servir à l'histoire de la glycogénèse*.

Dans ce travail R. Dubois montre que les vapeurs d'éther, en provoquant la dialyse cellulaire, ne modifiaient en rien l'action du ferment hépatique, son activité n'étant ni entravée, ni exagérée. Le ferment est donc contenu dans les mêmes éléments que le glycogène, de plus il est préformé car l'activité protoplasmique étant rapidement suspendue par l'éther, il ne pourrait s'en former de nouveau au fur et à mesure de sa destruction ou de son élimination. On peut en dire autant du glycogène : il ne se forme pas aux dépens du parenchyme

hépatique, mais il est tout simplement entreposé dans ce dernier sans quoi il se trouverait plus de sucre dans le tissu hépatique non soumis à l'action des vapeurs d'éther que dans ce dernier.

Les recherches de M. Permillieux et de Dastre ne constituent en somme qu'une suite des expériences que M. Dubois avait abandonnées au moment de son départ du laboratoire de Dastre.

Il n'est pas exact non plus que R. Dubois n'ait pas employé la dialyse cellulaire par les vapeurs de liquides organiques neutres, car il s'en était servi pour tenter l'extraction de la zymase photogène à laquelle il a donné le nom de *luciférase* aujourd'hui classique.

Ces recherches ont même un intérêt spécial au sujet du mécanisme intime de l'atmolyse envisagé d'une façon générale. Voici en effet ce que dit R. Dubois dans le *Traité de Physique biologique de d'Arsonval* [27] : « On prouve assez facilement que la lumière physiologique est le résultat d'une oxydation zymasique par l'expérience suivante qui permet d'extraire de la *Pholade dactyle* le principe oxydable, au moyen de la dissociation plastidaire par les vapeurs de liquides organiques neutres (*chloroforme, éther, etc.*), imaginé en 1884 par R. Dubois. On suspend plusieurs siphons ouverts et préalablement égoutés de *Pholade dactyle* au-dessus d'un entonnoir placé sur un flacon contenant de l'alcool absolu. Le tout est enfermé dans un vase hermétiquement clos dans lequel l'air a été remplacé par des vapeurs de chloroforme qui sont fournies par un verre contenant le liquide et placé à côté du flacon d'alcool absolu. Au bout de quelques temps, il s'écoule du siphon un liquide qui donne dans l'alcool absolu un coagulum, lequel, après avoir été débarrassé de l'alcool, se redissout en partie dans l'eau. La dissolution, qui présente le caractère de celles des protéoses, a une odeur aromatique caractéristique : elle ne donne aucune lumière dans l'obscurité, même par agitation au contact de l'air. Mais, si on y

ajoute une parcelle de permanganate de potasse, la lumière apparaît aussitôt. *Quand, au lieu de chloroforme, on emploie l'éther*, le coagulum renferme à la fois le principe oxydable *luciférine* et le principe oxydant *luciférase* et il brille sans le secours d'aucune substance étrangère au contact de l'air et de l'eau. »

Mais ce n'est là que le résumé d'une note présentée bien antérieurement, en 1901, à la Société de Biologie par R. Dubois et intitulée *Nouvelles recherches sur la biophotogénèse* [22]. L'auteur dit, en remarque : « Je préfère le mot *dissociation plastidaire* au mot *dialyse chloroformique* parce que les vapeurs de liquides organiques neutres, tels que le chloroforme, l'éther et autres, ne chassent pas des tissus et des plastides que des substances dialysables. »

Bien que cette note porte la date du 29 juin 1901, les recherches qu'elle mentionne étaient, ainsi que d'autres analogues, bien antérieures à celles de M. Permillieux et de Dastre, d'après ce que dit R. Dubois dans une autre note intitulée : *Mécanisme intime de la formation de la luciférine. Analogie et homologie des organes de Poli et de la glande hypobranchiale des mollusques purpurigènes*, également présentée à la Société de Biologie [23]. Dans cette note, M. Dubois emploie les expressions *osmolyse* et *osmolyseurs* qu'il devait remplacer plus tard par ceux d'*atmolyse* et d'*atmolyseurs*, ce qui a été peut-être un tort, car le mot *atmolyse* a, en chimie, un autre sens, ce qui peut prêter à confusion, et le mot *osmolyse* n'a pas cet inconvénient ; mais c'est le mot *atmolyse* qui a prévalu pour d'autres raisons.

Ce qu'il importe surtout de retenir de ces recherches faites en partie en vue d'extraire la zymase luciférase, c'est qu'il n'est pas indifférent d'employer les vapeurs d'éther au lieu de celles de chloroforme, la nature du produit atmolysé pouvant avoir une composition différente suivant l'espèce des vapeurs employées, bien que dans tous les cas on constate le phénomène de la déshydratation, ne différant que par la

quantité de liquide exsudé dans un temps donné. C'est un point sur lequel j'aurai l'occasion d'insister à nouveau à propos de mes recherches personnelles. Je note cependant encore que R. Dubois s'est servi de l'atmolyse chloroformique pour montrer que la luciférine ne préexiste pas toute formée dans le siphon lumineux de la *Pholade dactyle*, mais qu'elle dérive d'un autre protéidé, la *préluciférine* [23]. L'atmolyse a donc permis par surcroît d'établir, en même temps que l'homologie anatomique, l'analogie physiologique des organes qui chez le *Murex* produisent la pourpre au moyen d'un prochromogène avec les organes de Poli qui, chez la *Pholade*, donnent le prophotogène ou *préluciférine*. J'aurai l'occasion de revenir sur ce point très intéressant au point de vue de la biologie comparée.

En 1912, dans une note intitulée : *Isolement de la substance anticoagulante du foie par la dialyse chloroformique*, le professeur Doyon [44] s'exprime ainsi :

« La dialyse chloroformique fournit un moyen d'obtenir des substances solubles plus ou moins mélangées au contenu cellulaire. (Dastre a réussi par ce procédé à extraire du foie le ferment hépatique capable de transformer le glycogène en sucre.) J'ai constaté que le liquide exsudé du foie plongé dans une atmosphère de chloroforme empêche le sang de se coaguler... *in vitro*. »

Dans une autre note (*loc. cit.*, p. 133), il a montré que l'action attribuée au chloroforme n'était pas attribuable à l'autolyse.

Plus tard (p. 306), le professeur Doyon étudie l'action des vapeurs de liquides anesthésiques sur le foie et leur rapprochement avec les effets du gel.

Il constate avec Billard que le liquide exsudé du foie, plongé dans une atmosphère de vapeurs de chloroforme, empêche le sang de se coaguler *in vitro*.

Il constate que l'antithrombine apparaît par suite d'un déplacement d'eau qui entraîne avec elle la substance active,

« suivant le mécanisme découvert par R. Dubois » [44], et non par un phénomène banal d'autodigestion, d'autolyse.

« Dès le début de la dialyse, le liquide exsudé est anticoagulant. Les macérations du foie soumises à la dialyse restent toujours coagulantes. Le foie témoin ne devient anticoagulant qu'après plusieurs heures d'autolyse. Dialyse chloroformique de Dastre et atmolyse de Dubois d'une part, ou autolyse d'autre part, aboutissent au même résultat en définitive, c'est la même chose, mais vraisemblablement par des mécanismes différents ».

« J'ai montré, ajoute M. Doyon, que la congélation favorise nettement la mise en liberté de l'antithrombine. Je rappelle à ce sujet que R. Dubois soutient l'identité de l'action du gel et celle des anesthésiques généraux. »

Plus tard encore, M. Doyon publie une autre note intitulée : *Extraction comparée de l'antithrombine des intestins par la dialyse chloroformique, l'action de la chaleur à l'autoclave, la macération :*

« Le liquide exsudé des intestins, soit à l'autoclave, soit dans une atmosphère de chloroforme, possède d'emblée le pouvoir d'empêcher, in vitro, le sang de se coaguler. La substance active est une nucléo-protéide¹. »

Enfin, dans un travail important tout récent sur le sucre du sang [54], le professeur Lépine indique qu'il s'est servi du procédé d'analyse atmolytique « imaginé par R. Dubois » pour extraire le ferment amylolytique du foie qu'il a découvert et par là prouvé l'existence du sucre virtuel du sang, et ce n'est pas un des moindres résultats de l'application de l'atmolyse de Dubois à la physiologie et à la chimie biologique.

Des procédés divers, relevant de l'atmolyse de R. Dubois, sont entrés dans la pratique pharmacologique.

Dans une brochure sans date intitulée *les Intrails* et dans

¹ M. Doyon s'est servi des vapeurs et cependant il emploie le mot *dialyse*. Il faut croire que, contrairement à ce qui semble ressortir de la note précitée, *dialyse* et *atmolyse* aient pour l'auteur la même signification.

divers articles de la presse pharmaceutique et médicale, on a proposé de conserver aux plantes toutes leurs propriétés physiologiques qu'elles présentent à l'état frais (c'est-à-dire encore vivant) à l'aide d'un procédé qui permet d'obtenir des *intraits* lesquels ne présenteraient pas les altérations résultant des manipulations employées dans la préparation des *extraits* pharmaceutiques.

Aussitôt après leur cueillette, les plantes sont stérilisées ou plutôt *stabilisées* par un procédé imaginé par PERROT et GORIS. Ce procédé consiste à faire agir, dans une sorte d'autoclave en vase clos, des vapeurs d'alcool bouillant à une température de 70 degrés environ [45].

Il est indispensable de faire remarquer de suite que Dubois a montré que le mode d'action des vapeurs d'alcool est le même que celui qu'il a décrit pour les vapeurs anesthésiques, telles que celles d'éther ou de chloroforme. Et on peut ajouter que ce traitement doit produire quelques modifications des principes actifs chez les végétaux qui y sont soumis.

Mais on ne s'est pas borné à cette application du procédé de Raphaël Dubois, en lui prêtant des qualités que son auteur ne lui a jamais attribuées.

On se sert encore de l'atmolyse pour la préparation de ce que l'on appelle les *sucs végétaux*.

A propos de ceux-ci, on prétend que, si la stabilisation par les vapeurs d'alcool a la propriété de détruire les ferments modificateurs de l'état naturel des principes immédiats des plantes, il y a des cas où, loin de détruire les ferments, il serait au contraire avantageux de favoriser leur action sur les complexes des plantes, afin d'obtenir l'action curative. Ainsi chez les crucifères, si l'on détruit la myrosine, les glucosides ne seront pas dédoublés, et il ne se formera pas d'essence, principe actif des crucifères.

Voici comment on procède pour obtenir les *sucs végétaux* :
« aussitôt après la cueillette, les plantes sont soumises à un
« mondage minutieux; puis elles sont introduites dans des

« récipients clos où l'on peut faire le vide : on ajoute ensuite
« de l'éther en petite quantité.

« Sous l'influence des *vapeurs anesthésiques* produites par
« l'éther, la fonction chlorophyllienne est suspendue, puis
« détruite au bout d'un certain temps. Les organes verts
« deviennent flasques et prennent une teinte noirâtre ; leur
« surface humide laisse perler des gouttelettes liquides. Cette
« exsudation se continue et, au bout de quelques jours, le
« récipient renferme une quantité notable de suc de plante,
« sans trace de chlorophylle ; celle-ci reste en solution dans une
« petite couche d'éther qui est à la surface du suc.

« Cette action des vapeurs anesthésiques sur les végétaux
« a été particulièrement étudiée dans ces dernières années par
« MM. Guignard, Mirande, Heckel. »

Des travaux de R. Dubois, le véritable initiateur, pas un mot ! Et pourtant on croirait relire ce qu'il écrivait en 1883-84 dans ses notes à la Société de Biologie « sur l'action des
« vapeurs des liquides organiques neutres sur la substance
« organisée. »

Encore une fois, Raphaël Dubois dut protester. Il le fit dans un article intitulé : *Atmolyse et atmolyseurs*, puis par une note parue le 25 décembre 1912, dans la *Revue moderne de Pharmacie* [42], dans les *Comptes rendus des Congrès de Chimie appliquée et de Pharmacologie* de New-York et Washington, en 1911 [41], et enfin dans la séance du 25 mars 1913 au Congrès pour l'avancement des sciences à Tunis [47]. Cette note, que je crois utile de reproduire *in-extenso* résume les deux premières ; mais, chose curieuse, dans les notes-mémoires du Congrès (p. 146), il est dit :

« La présentation a été suivie d'une importante discussion qui trouvera place dans les comptes rendus, à la suite de l'exposé du travail. »

Or, c'est en vain que j'ai cherché cette *importante discussion* à la suite de l'exposé du travail (p. 550-552).

Voici la note en question *Sur les Produits pharmaceutiques*

atmolysés, par le professeur Raphaël DUBOIS de la Faculté des Sciences de Lyon :

« Dans une note sur l'*Atmolyse et l'atmolyseur* dont je suis
« l'inventeur, présentée au dernier Congrès de chimie appli-
« quée et de pharmacologie de New-York et Washington, je
« me suis servi du mot *intrait* pour désigner des produits à la
« fabrication desquels, je pensais, avec mon savant ami et
« collègue, M. le professeur Florence, de la Faculté de Méde-
« cine de Lyon, que mon procédé d'*atmolyse* n'était pas
« étranger.

« Le mot *intrait* désignant exclusivement des produits
« commerciaux, je lui ai substitué la désignation de *produits*
« *atmolysés*, ce terme général devant, à mon sens, servir
« à désigner dans les pharmacopées, tous les produits pour
« lesquels on aura mis en œuvre le procédé général d'analyse
« immédiate que j'ai découvert, en étudiant l'action physio-
« logique des alcools et des vapeurs anesthésiques.

« Pour ne laisser prise à aucun malentendu, je rappellerai
« que mon procédé est basé sur les principes suivants :

« 1° Action des vapeurs (*atmos-vapeurs*) sur des tissus
« animaux ou végétaux, vivants ou frais ;

« 2° Les vapeurs employées sont fournies par des liquides
« organiques neutres présentant les propriétés physiologiques
« des anesthésiques généraux : alcools, éthers, chloroforme,
« et autres composés chlorés du carbone, carbure d'hydro-
« gène, etc. ;

« 3° Les vapeurs en question agissent par diffusion,
« osmose, dialyse spéciale, et les effets produits sont différents
« de ceux qui résulteraient de l'immersion pure et simple
« de ces tissus dans les liquides générateurs des vapeurs
« *atmolysantes* ;

« 4° L'action de ces vapeurs peut être diversement modifiée
« par la température, la pression, etc.

« Dans mes recherches, en effet, j'ai fait souvent intervenir
« les variations de chaleur et de pression (qui se font d'ailleurs

« dans le même sens, ainsi que le montrent nettement la présence d'un thermomètre dans mon atmolyseur et celle d'un manomètre à la partie supérieure). Ces variations sont surtout utiles quand on opère avec des liquides ayant une tension de vapeur relativement faible, comme les alcools en général.

« On pourrait même, peut-être, en cherchant bien dans les magasins du Laboratoire de physiologie de la Sorbonne, retrouver un appareil atmolyseur en métal, que j'avais fait construire à l'époque où j'étais encore préparateur de Paul Bert ou de Dastre.

« On voit que la question de l'atmolyse n'est pas nouvelle et j'ai été tristement impressionné de ne voir mentionner, dans la brochure relative aux intraits, que les récentes recherches de MM. Guignard, Mirande, Heckel, qui ne sont, en définitive, comme je l'ai dit dans ma communication à l'Académie des Sciences du 26 mai 1902, que la confirmation des résultats de mes expériences anciennes. J'en ai dit autant de celles de MM. Demoussy, Pouguet et Mölish de Prague (cité par M. Guérin) et je pense qu'aucune contestation n'a été opposée à ma réclamation de priorité.

« Mais ce n'est pas le seul point qui m'ait frappé dans la lecture des écrits relatifs aux intraits et aux suc végétaux.

« D'après leurs auteurs les intraits seraient préparés entièrement à froid (p. 5), et un peu plus loin ils ajoutent : *Les plantes sont recueillies dans les meilleures conditions de terrain et d'habitat, et envoyées aussitôt à l'usine où elles sont stabilisées dans le vide, dans des autoclaves appropriées, par la vapeur d'alcool bouillant, sous pression réduite, à une température de 70 degrés environ.*

« La contradiction est évidente.

« Et plus loin : *Cette action combinée de la chaleur et des vapeurs d'alcool qui ne dure que quelques secondes a pour but de détruire tous les ferments solubles ; la plante ainsi*

« *traitée pourra être desséchée sans que la composition chimique qu'elle avait au moment de la cueillette se trouve modifiée.*

« Je dois à la vérité scientifique de déclarer que ces affirmations sont en complète opposition avec les recherches de laboratoire que j'ai poursuivies pendant de longues années, et pourtant le fait d'employer les vapeurs d'alcool — même bouillant — fait entrer le *modus operandi* employé dans le cadre de l'atmolyse.

« Par le seul fait de la mort du tissu vivant, végétal ou animal, il se produit des modifications profondes dans la composition du bioprotéon : physiques, chimiques et morphologiques. Ces modifications sont encore plus accentuées, lorsque, à l'action de la chaleur, on ajoute celle de la vapeur d'un liquide anesthésique, tel que l'alcool. Il est donc anti-scientifique de dire que les substances obtenues par le procédé d'analyse immédiate de l'atmolyse *représentent, inaltéré, le complexe primitif soluble dans l'eau qui existait dans la plante vivante.*

« Sans doute mon procédé d'atmolyse est plus délicat que les autres procédés d'extraction, mais, malgré la tendresse paternelle que j'ai pour lui, je n'aurais jamais pu lui accorder des vertus aussi merveilleuses que celles que les auteurs de la brochure lui attribuent. Ces auteurs ne pourront plus se refuser à reconnaître que leurs sucS végétaux sont préparés par l'atmolyse, puisqu'ils font agir des vapeurs d'éther sur des plantes fraîches, et non par éthérolyse, car, dans ce procédé, dû à Legrip, les plantes sont immergées dans l'éther liquide, ce qui donne des résultats différents.

« Je n'ai pas soulevé ce débat, mais je crois qu'il peut être utile à ceux de mes nombreux confrères en médecine et en pharmacie qui attachent de l'importance à la vérité et à l'exactitude scientifique, et la placent au dessus de toute considération d'ordre industriel et commercial. »

Les protestations de M. R. Dubois ont eu pour effet de

provoquer l'envoi d'une lettre des auteurs de la brochure, note qui a été insérée dans le *Bulletin de Pharmacie de Lyon* en août 1913 [46], et dans laquelle on peut lire le passage suivant :

« M. R. Dubois, qui, le premier, a indiqué le phénomène de l'atmolyse, n'avait pas prévu l'intérêt de ces relations chimiques secondaires et s'était borné uniquement à relater le phénomène de déshydratation qui se produit dans la cellule. »

Et c'est aux travaux de Guignard, Mirande et Heckel qu'ils continuent à attribuer le mérite de la découverte de R. Dubois !

Ce dernier a répondu : « Vous vous trompez au risque de
« tromper les personnes qui s'intéressent à la question dont
« vous semblez ignorer complètement les origines puisque
« vous ne les indiquez pas dans la courte bibliographie que
« vous donnez à la fin de votre note. Or, au point de vue
« scientifique, le seul auquel je me place, je considère que les
« bibliographies tronquées sont dangereuses et peuvent faire
« attribuer, à tort ou à raison, à des mobiles regrettables les
« omissions qui s'y rencontrent. »

Cet historique ne serait pas complet si l'on ne signalait un important travail du D^r Galippe SUR LA PRÉSENCE D'ÉLÉMENTS VIVANTS DANS LE TISSU MUSCULAIRE [53], dans lequel je relève le passage suivant : « Sous le nom d'atmolyse, R. Dubois, de
« 1883 à 1884 (Comptes rendus de la Société de Biologie) et
« dans différents travaux subséquents, a montré l'action
« qu'exercent sur la substance organisée les vapeurs de
« liquides organiques, tels que chloroforme, benzine, éther,
« alcools, etc., dont l'inhalation est susceptible de pro-
« duire l'anesthésie générale. Les vapeurs atmolysantes, dit
« R. Dubois, chassent des tissus l'eau qui entraîne avec elle
« des cristalloïdes et parfois même des colloïdes, par exemple
« des zymases, telles que la luciférase (Dubois), le ferment
« hépatique (Dastre). »

L'atmolyse est donc un phénomène osmotique se produisant

entre des liquides aqueux et des vapeurs, au travers d'un septum plus ou moins dense et, comme le dit justement R. Dubois, l'action des anesthésiques sur la substance organisée est comparable à celle du froid.

Il convient de rappeler que R. Dubois a spécifié qu'il ne s'agissait que des liquides organiques neutres qu'il a groupés en vertu de certains caractères communs sous le nom d'*anesthésiques généraux*. Il a spécifié notamment que le protoxyde d'azote, employé couramment comme anesthésique, n'est pas un anesthésique général, dans son étude sur l'action du protoxyde d'azote sur les *Echeveria* [10] et dans l'anesthésie physiologique et ses applications [15]. On est à juste titre surpris que, vingt-huit ans plus tard, M. Arthus, de Lausanne, adresse à la Société de Biologie une note intitulée : « *Quelques remarques sur le mode d'action des anesthésiques généraux* », [49] dans laquelle il conclut, d'après ses expériences et celles de ses élèves, MM. Siegel-Sokolosky, Gourfinkel, Trichel, Trachtmann et Karakacheft « *que le chloroforme et le protoxyde d'azote n'agissent pas sur les mêmes éléments organisés, ou tout au moins qu'ils n'agissent pas de la même façon pour provoquer l'anesthésie* ». Il est en vérité bien surprenant que, sur un nombre si imposant de savants, il ne s'en soit pas trouvé un seul pour rappeler les conclusions identiques, mais de combien antérieures, de R. Dubois, et pourtant Arthus avait été son collègue comme préparateur au laboratoire de physiologie de la Faculté des sciences de Paris, devenu après Paul Bert, celui de Dastre.

Au point de vue de l'embaumement et de la momification, le procédé R. Dubois peut être considéré comme un moyen de chasser l'eau contenue dans les tissus organiques et d'assurer ainsi leur conservation. En chirurgie, l'emploi du chloroforme et surtout de l'éther pour le pansement des plaies n'est qu'une application des recherches de Dubois. En ce qui concerne plus particulièrement l'éther, à côté des propriétés anesthésiques, antithermiques de ce corps, il faut faire entrer en ligne

de compte l'action suspensive qu'il exerce sur la vitalité des éléments vivants intra et extra-vasculaires. Cette action est encore favorisée par son pouvoir déshydratant, qui s'oppose à l'évolution normale de ces éléments, en leur soustrayant l'eau qui est nécessaire à leur fonctionnement et surtout à leur multiplication.

Ceci ressort, en effet, bien nettement de ce qu'a montré R. Dubois, particulièrement dans sa note à l'Académie des sciences du 26 mai 1902 [25].

Le travail de Galippe réduit à néant les allégations que M. L. Camus a produites dans une note à la Société de Biologie [52] intitulée : *Contribution à l'étude du mécanisme de la stérilisation par les liquides anesthésiques*. M. Camus a eu tort de considérer, comme « une nouvelle technique » d'extraction des produits cellulaires, un procédé qui a été inventé par Legrip en 1876, et qu'il a décrit sous le nom d'*éthérolyse* [2]. L'*éthéro-exosmose* de M. Camus est l'*éthérolyse* de Legrip, dont j'aurai à m'occuper ultérieurement. Disons de suite que l'*atmolyse* de M. Dubois donne des résultats différents de ceux que fournit l'*éthérolyse* de Legrip. M. Camus prétend à tort, comme je le montrerai bientôt, que le liquide d'exsudation de Raphaël Dubois et le liquide de dialyse chloroformique de Dastre (ce qui est la même chose), sont de même nature que celui que fournit l'*éthérolyse* [5]. Non seulement le fait a été à plusieurs reprises mis en lumière par R. Dubois, mais encore Billard a fait à ce sujet une remarque intéressante [38]. D'après Ramon [31], le suc d'autolyse de foie de porc est habituellement considéré comme toxique, mais Billard a fait remarquer qu'il n'a jamais observé d'intoxication, parce que, au lieu de se servir du suc autolysé, obtenu en immergeant le foie dans l'éther ou le chloroforme et séparant ensuite le suc, il s'est servi du procédé de R. Dubois, c'est-à-dire de l'*atmolyse*.

Comme chose nouvelle, M. Camus annonce que les lipoïdes retiennent une certaine quantité d'anesthésiques et qu'il peut

se produire une coagulation plus ou moins persistante, mais à ces actions s'ajoute encore une déshydratation importante et une élimination plus ou moins considérable de ferments et produits cellulaires variés qui sont peut-être pour beaucoup dans le phénomène particulier de la stérilisation anesthésique. M. Camus conclut : « l'exosmose que je viens de signaler n'est pas seulement intéressante pour l'étude du mécanisme de la stérilisation et l'étude des produits cellulaires ».

Tout cela n'a-t-il pas été dit et répété par R. Dubois à maintes reprises.

D'ailleurs, dans une lettre adressée au professeur R. Dubois, le 25 janvier 1911, par le professeur Florence, de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon, celui-ci s'exprime ainsi :

« J'ai consciencieusement cherché et je n'ai rien trouvé qui puisse faire admettre qu'avant vous on ait eu l'idée d'employer les vapeurs d'éther ou de chloroforme à la dialyse. Il y a bon temps que cette notion nous a été donnée par vous au laboratoire de médecine légale du temps de Parcelly et on s'en est beaucoup occupé sous votre direction. La thèse de Parcelly [12] sur votre procédé d'embaumement fixe une date. Il est étrange que l'application de ce principe n'ait pas eu lieu plus tôt; mais, en tout cas, l'idée mère est de vous.

« J'ai fait un petit historique de l'éther depuis son invention. Ses emplois, comme dissolvant, sont les éthérolés, et les éthérolés, cela n'a rien de commun avec l'agent de dialyse par les vapeurs. »

A propos de la même question, le professeur Guignard, directeur de l'Ecole supérieure de pharmacie de Paris, membre de l'Institut, écrivait le 30 décembre 1910, à M. R. Dubois : « Vous avez pleinement raison de n'être pas satisfait du silence que l'on fait trop souvent sur vos travaux, etc... »

Enfin, n'est-il pas regrettable de constater que cette conspiration du silence ait été, à propos de l'exposition de San-Francisco, l'objet d'une sévère appréciation à l'égard de l'un

de nos compatriotes¹ chargé de faire les rapports sur les travaux des physiologistes français?

Je crois devoir la mentionner au moment où la France consent tant de si lourds sacrifices pour l'extension ou seulement pour la conservation de son prestige scientifique à l'étranger.

¹ Le Dantec, *Samana Medica*, Buenos-Aires, 10 janvier 1918.

CHAPITRE IV

RECHERCHES SUR LE MÉCANISME INTIME DE L'ATMOLYSE

1^o DÉFINITION DE L'ATMOLYSE

Dans sa note insérée dans les comptes rendus de l'Académie des Sciences [41], intitulée : « *Atmolyse et Atmolyseur* », Raphaël Dubois, s'exprime ainsi : « *J'ai donné le nom d'Atmolyse (ατμος, vapeur, λω, je disperse, romps, sépare, dissous) à l'action qu'exercent sur la substance organisée les vapeurs des liquides organiques neutres volatils, tels que chloroforme, benzine, éthers, alcools, etc., dont l'inhalation est susceptible de produire l'anesthésie générale* ». On peut voir dans l'historique et dans la bibliographie de ce travail que les premières notes de R. Dubois sur le sujet, et dont la date de publication remonte jusqu'à 1883, portent précisément le titre qui définit la nature de l'atmolyse dans la note précitée : « *Action des vapeurs de liquides organiques neutres sur la substance organisée*. » Ce seul fait suffirait à établir l'incontestable priorité de Raphaël Dubois pour l'invention de l'Atmolyse.

Par *matière organisée*, il faut entendre les tissus ou parenchymes d'origine animale ou végétale et, d'une manière générale, la substance vivante ou mieux le *bioprotéon*. Ce dernier n'est pas une substance homogène. D'après une hypothèse que R. Dubois a établie depuis fort longtemps, il est constitué par l'agglomération de granulations dont les plus petites sont invisibles même à l'aide de l'ultramicroscope et dont le volume le

plus réduit doit être voisin de celui de la molécule. Ces granulations évoluent dans les cellules en granulations plus grosses, mais on peut les faire apparaître artificiellement par hydratation là où elles étaient un instant auparavant invisibles : elles se multiplient par segmentation et peuvent affecter des formes diverses, leur consistance est demi-fluide. Ce sont ces microéléments dont l'agglomération forme ce qu'on appelle le protoplasme, matière vivante ou bioprotéon. Cette dernière se présente donc en définitive sous la forme d'un colloïde, d'un hydrogèle extrêmement instable et que R. Dubois appelle *biohydrogèle*.

Tous les travaux physiologiques qui s'opèrent au sein des cellules et assurent leur fonctionnement normal, ou même anormal, sont dus à l'activité de ces particules, qui n'ont pas toutes la même fonction. Elles sont la partie agissante de ces singuliers colloïdes actifs auxquels on a donné le nom de ferments solubles (à tort, car ils ne peuvent former que des *sols* et non des solutions), de diastases, de zymases, qui, comme tous les corps à l'état colloïdal, sont constitués fondamentalement par des granulations entourées à l'état actif d'une atmosphère intergranulaire aqueuse et d'eau d'adsorption, indépendamment de l'eau d'absorption qu'elles fixent dans leur intérieur. Dans la plupart des cas, on ne constate aucune structure de ces granulations, mais il n'en est pas toujours ainsi, et R. Dubois a montré que certaines zymases peuvent en présenter une et se distinguer, en outre, par leur forme spécifique : c'est à ces granulations zymasiques que R. Dubois a donné le nom de *macrozymases* par rapport aux plus petites ou *microzymases*. La *luciférase* ou zymase oxydante photogène des organismes lumineux et la *purpurase* qui produit la pourpre, sont des types de macrozymases¹.

¹ V. Recherches sur la pourpre et quelques autres pigments animaux (*Arch. Zool. exp. et gén.*, 5^e série, II, 1909, p. 503), et : les Vacuolides de la purpurase et la théorie vacuolaire (*C. R. de l'Ac. des Sc.*, t. 153, p. 1507, 1911).

La purpurase affecte ordinairement la forme d'un rein ou d'un haricot, tandis que les granulations de luciférase sont plutôt ovoïdes. Mais ce qu'il y a de très remarquable et de particulièrement évident dans les grains de purpurase, c'est qu'ils ne sont pas homogènes quand ils sont gonflés par l'eau, c'est-à-dire en état d'activité. Ils sont manifestement formés d'une substance centrale remplissant une vacuole entourée par une couche externe d'une autre substance de consistance et de propriété différentes. C'est, en définitive, ce que R. Dubois avait autrefois décrit sous le nom de *vacuolides* comme éléments ultimes de la substance vivante.

Les Allemands ont substitué aux *vacuolides* leurs *mitochondries*, et il s'est malheureusement rencontré beaucoup de savants français pour favoriser la germanisation des vacuolides de R. Dubois.

Il n'est pas surprenant que les zymases aient une constitution analogue à celle des granulations élémentaires de la substance vivante, puisqu'en définitive c'est par elles que le bioprotéon opère toutes les réactions physico-chimiques qui constituent chaque fonction générale ou spéciale, telles que la respiration, la digestion, etc., etc. Les unes oxydent, hydratent, dédoublent, dissocient les molécules chimiques servant à la nutrition, tandis que d'autres réduisent, déshydratent, combinent entre elles les molécules séparées de constitution chimique différente. Parfois c'est la même zymase qui fait œuvre d'analyse ou de synthèse selon les conditions dans lesquelles elle se trouve, car on a pu démontrer que certaines d'entre elles ont un effet réversible. Ce qu'il y a de bien certain c'est que les influences physiques, chimiques ou mécaniques qui favorisent l'action des zymases, l'accélèrent ou, au contraire, la ralentissent, la suspendent ou la détruisent, agissent de même sur la substance vivante ou bioprotéon. Dès lors, pourquoi ne pas admettre que ce dernier est composé de granulations zymasiques pour sa partie active et que ces dernières ont la même constitution que les granulations élé-

mentaires ou vacuolides de R. Dubois : celles-ci, (de même que les mitochondries des allemands), n'ont pas toujours la forme vacuolaire : elles ne la prennent que sous certaines influences artificielles (agents hydratants), ou normalement par leur entrée en fonctionnement. Il y a fort longtemps que, dans ses leçons de physiologie générale et comparée[1]⁴, R. Dubois a dit que les vacuolides ne sont que de petits corpuscules identiques aux leucites décrits chez les végétaux, mais beaucoup plus petits et qu'ils se rencontrent aussi bien chez les animaux que chez les végétaux. Bien plus, R. Dubois les avait comparés à d'infiniment petits dialyseurs en raison de leur élection pour certaines substances et non pour d'autres, des modifications qu'ils faisaient subir par dissociation, ou autrement, aux substances entrant ou sortant de la vacuole centrale ou simplement y séjournant.

La légitimité de la comparaison entre les vacuolides et les leucites, démontrée par R. Dubois, a été reprise par Guilliermond entre les leucites et les mitochondries, ce qui conduit à conclure que vacuolides et mitochondries sont choses sinon identiques, au moins analogues.

Ces vues de R. Dubois sur la constitution intime du bioprotéon ou substance vivante lui ont permis de reculer bien au-delà des limites de la cellule l'explication de l'action des anesthésiques généraux et par conséquent du mécanisme de l'atmolyse, puisqu'il a démontré qu'en dernière analyse la substance vivante est constituée par des granulations dont la structure et les propriétés permettent de les comparer à d'*infiniment petits dialyseurs*. C'est là un point important sur lequel j'aurai l'occasion de revenir bientôt.

Les liquides organiques neutres fournissant les vapeurs appartiennent, il est vrai, à des familles chimiques très différentes, aussi n'est-ce pas par leur activité chimique qu'elles agissent, mais bien par leurs propriétés physiques communes.

⁴ Raphaël Dubois *Leçons, de Physiologie générale et comparée*. Paris, chez Masson, lib. éd.

Elles constituent, pourrait-on dire, une famille *physico-chimique*, comme R. Dubois l'a si bien montré dans diverses publications¹.

Toutefois il ne faut pas perdre de vue que dans l'atmolyse ce ne sont pas ces corps que l'on fait agir directement, mais seulement leurs vapeurs, ce qui est bien différent, comme nous allons le voir.

Faute d'avoir fait cette distinction, il s'est établi une grande confusion dans cette question. Le procédé de R. Dubois a été désigné sous les noms les plus divers : *dialyse cellulaire*, *autolyse*, *plasmolyse*, *dialyse chloroformique*, *osmolyse*, *éthérolyse*, etc.

La confusion de l'atmolyse avec l'éthérolyse est particulièrement regrettable. L'éthérolyse a été imaginée en 1876 par Legrip pour extraire par immersion dans l'éther liquide les principes actifs des végétaux frais ; c'est quelque chose d'analogue au procédé de préparation des alcoolatures, mais les résultats sont cependant sensiblement différents. On peut se convaincre de la différence entre l'atmolyse et l'éthérolyse par l'expérience suivante : On coupe en deux, perpendiculairement à son axe, une orange mandarine et l'on plonge dans l'éther liquide une des moitiés, en faisant autant que possible

¹ *Rev. gén. des Sc. pures et appl.*, p. 16-189 : Ce sont des alcools, des éthers simples ou composés, des aldéhydes ou des produits chlorés, des carbures d'hydrogène ou hydrocarbures. Malgré leur différence de composition atomique et leur structure moléculaire particulière, ils n'en possèdent pas moins un ensemble de propriétés physiques et organoleptiques qui leur donnent comme un air de famille. Ils sont incolores et odorants, possèdent une saveur piquante et produisent, quand on les applique sur la peau, une sensation de chaleur plus ou moins brûlante. Ce sont des liquides mobiles, volatils, doués, en général, d'une tension de vapeur d'autant plus grande et d'une solubilité dans l'eau d'autant plus faible qu'ils sont plus anesthésiques. Leur chaleur spécifique est faible, beaucoup plus faible d'ordinaire que celle de l'eau ; ils sont, en outre, dysosmotiques, c'est-à-dire qu'ils traversent difficilement les membranes organiques. Leur poids moléculaire élevé est en raison inverse de leur chaleur spécifique, et en raison directe de leur pouvoir anesthésique et toxique.

en sorte que la section soit verticale. Au bout de quelques heures, on constate que la partie liquide présente deux couches ; une supérieure éthérée et une inférieure aqueuse. Par évaporation à l'air libre, la couche éthérée abandonne beaucoup de gouttelettes d'essence nageant dans un résidu adipoïde jaunâtre. L'autre moitié de la mandarine a été placée dans l'atmolyseur, dont je donne plus loin la description. Elle n'est pas en contact direct avec l'éther liquide, mais seulement avec ses vapeurs ; il s'écoule un liquide moins coloré, plus épais et plus sucré que celui de la couche aqueuse de l'expérience précédente : il ne renferme ni essence, ni principe amer.

La manière dont procédait Legrip est analogue à celle au moyen de laquelle Graham transformait des hydrogels en alcoogels et des alcoogels en éthérogels, et je montrerai bientôt que les effets du contact direct du liquide sont bien différents de celui des vapeurs pour un même corps. C'est d'ailleurs ce qui résulte également du travail de Billard, dont il a été question dans l'historique.

C'est pour ces raisons que R. Dubois tirait, dans sa note à l'Académie sur l'*atmolyse* et l'*atmolyseur*, les conclusions suivantes que je cite textuellement : « *L'atmolyse que j'ai découverte est le résultat de l'action osmotique exercée sur la substance organisée des tissus par les vapeurs de liquides anesthésiques. Elle ne doit pas être confondue avec l'éthérollyse, la plasmolyse, l'autolyse, etc. Elle constitue un procédé précieux d'analyse physiologique, physico-chimique et aussi d'extraction des principes immédiats utilisables en thérapeutique.* »

Description de l'Atmolyseur.

Technique de l'Atmolyse.

L'appareil le plus simple pour opérer l'atmolyse consisterait en un flacon à large ouverture, muni d'un bouchon portant à sa partie inférieure un fil muni d'une épingle recourbée en crochet pour suspendre le tissu ou parenchyme à atmolyser

au-dessus d'une couche de liquide atmolyseur. Le tout étant bien clos, on voit tomber du tissu atmolysé des gouttelettes qui se réunissent au fond du liquide atmolyseur, si, comme l'éther ou la benzine, il est plus léger que l'eau.

Ce dispositif présente l'inconvénient de mettre en contact le liquide atmolysé avec le liquide atmolyseur qui, agissant comme dissolvant, ou autrement, peut altérer la composition et les propriétés du produit obtenu par exsudation.

L'atmolyseur, dont s'est servi R. Dubois, se compose (voir figure p. 59) d'un grand bocal de verre épais cylindrique V, hermétiquement fermé par un couvercle de glace épaisse munie d'un bourrelet de caoutchouc, et solidement fixé par des chevaux de cuivre à vis C U, au moyen d'un disque arrondi en bois dur C.

Dans l'intérieur est un entonnoir en verre très évasé E, placé sur un flacon F destiné à recevoir le liquide atmolysé; de chaque côté sont des récipients évasés également R R, destinés à contenir les liquides générateurs des vapeurs atmolysantes, simples ou conjuguées (par exemple éther dans l'un et chloroforme dans l'autre). Un manomètre *m* indique la tension des vapeurs à l'intérieur du système et un thermomètre *t*, la température. Les tissus à atmolyser sont placés dans l'entonnoir, ou bien déposés sur un diaphragme percé de trous, de façon à éviter l'obstruction de la douille. On peut aussi se servir des entonnoirs troués employés pour la filtration rapide par le vide.

A ce dispositif, j'ai ajouté une ouverture latérale auprès du fond du bocal, destinée soit à faire le vide dans l'intérieur de l'appareil, soit à augmenter au contraire la pression intérieure, soit enfin à faire pénétrer des vapeurs provenant de liquides contenus dans un petit ballon que l'on peut chauffer au bain-marie et mis en communication avec l'intérieur de l'atmolyseur par un tube de verre à robinet et un tube de caoutchouc à parois épaisses.

Pour certaines opérations, l'entonnoir central est remplacé

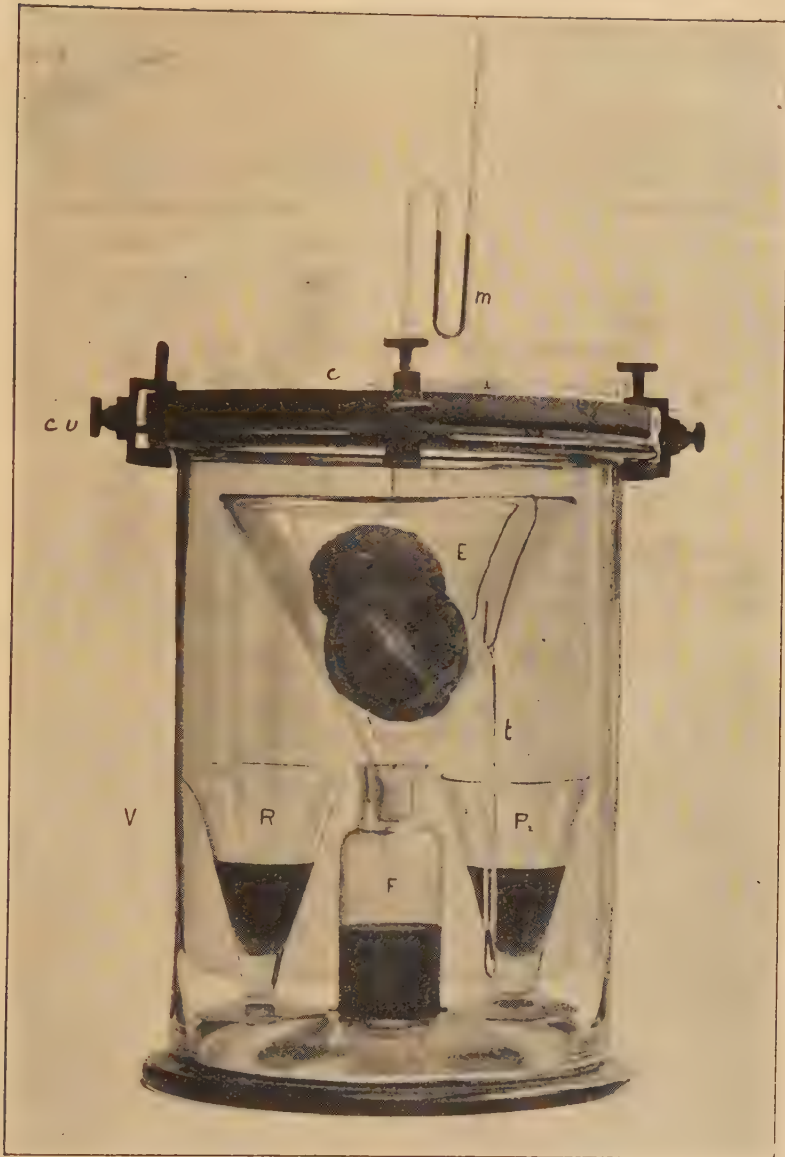
par un support à branches auxquelles on peut suspendre des tubes de dialyseur fermés, des ampoules à parois organiques, des fragments de colloïdes imitant des cellules, etc. Audessous, on place des éprouvettes graduées, supportant de petits entonnoirs pour recueillir les liqueurs atmolysées.

L'emploi de l'atmolyseur peut être très simplifié en retournant le bocal et en faisant reposer son bord rodé sur une rondelle de caoutchouc placée sur la plaque de verre dépoli servant de support aux vases renfermant le liquide atmolyseur et les substances à atmolyser. Sur le fond du bocal, on place un poids lourd, par exemple un récipient rempli d'eau pour remplacer l'effet des vis à pression dans l'appareil précédent.

2^o RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LE MÉCANISME INTIME DE L'ATMOLYSE

Pour bien démontrer qu'on ne doit pas confondre l'éthérolyse avec l'atmolyse par l'éther, et que l'exposition directe des substances au contact d'un liquide atmolyseur ne donne pas les mêmes résultats que leur exposition à l'action des vapeurs de ce même liquide, j'ai opéré de la façon suivante, comme l'avait fait autrefois le professeur R. Dubois, et sur les indications de ce dernier :

J'ai taillé, dans un bouillon colloïdal de gélatine-peptone servant aux cultures microbiennes, plusieurs cubes. La moitié de ces cubes a été immergée pendant vingt-quatre heures dans une solution concentrée de tannin pour durcir la surface ; l'autre moitié n'a subi aucune préparation de cet ordre. Tous les cubes ont été suspendus dans l'atmolyseur, au-dessus de petits récipients (verres à expériences). J'ai fait le vide à l'aide de la trompe à eau pour retirer le plus d'air et vaporiser le plus d'éther possible. Au bout d'une heure, les cubes qui avaient été plongés dans la solution de tannin, dont la surface avait été pour ainsi dire tannée, ont laissé transsuder de nom-



Atmolyseur du professeur Raphaël DuBois.

breuses gouttelettes et cette transsudation continuait encore au bout de quarante-huit heures. Les cubes qui n'avaient pas été immergés dans la solution de tannin ne présentaient à leur surface aucune gouttelette.

La même opération a été répétée avec le même résultat en opérant sur des cubes formés simplement en dissolvant 125 grammes de gélatine pure dans 100 grammes d'eau. En remplaçant la couche tannée par une fine membrane organique, on obtient la sudation atmolytique, comme avec les cubes tannés.

CONCLUSIONS. — Dans l'éthérolyse, les cubes auraient été déshydratés, comme dans l'expérience de Graham avec les colloïdes minéraux, et il se serait formé, par simple diffusion, un étherogèle. Dans les expériences précédentes, il est nécessaire, pour provoquer la sudation, qu'il existe entre le colloïde et la vapeur atmolysante une membrane, ce qui prouve qu'il s'agit d'une véritable dialyse. Il n'est pas même indispensable qu'il existe une vraie membrane, comme cela a lieu dans les cellules végétales en général; il suffit qu'il y ait autour du noyau colloïdal, ou autre, une partie plus dense que lui, comme c'est le cas dans la généralité des cellules animales dont l'endoplasme n'est souvent séparé du milieu extérieur que par un ectoplasme un peu plus densifié.

Ce n'est pas seulement le cas des cellules animales somatiques, mais aussi d'une foule de protistes ou organismes monocellulaires.

C'est à dessein que j'ai insisté (p. 62 et suiv.) sur la constitution intime du bioprotéon ou substance vivante, dont les éléments constitutifs fondamentaux prennent, dans l'état d'activité, la forme de vacuolides, c'est-à-dire de très petits leucites, comme l'avaient montré d'abord Raphaël Dubois, et plus tard Guilliermond.

Dans ces organismes élémentaires les conditions, dont je viens de signaler la nécessité, se trouvent réalisées et la dialyse par atmolyse peut se produire entre le contour de la vacuole

et le milieu extérieur au travers des parois de la vacuole. Il en est de même, *a fortiori*, pour les gros leucites, comme les chloroleucites, qui sont le siège de la fonction chlorophyllienne et c'est ce qui permet la seule explication possible de cette découverte de Claude Bernard, à savoir que l'action des vapeurs anesthésiques suspend l'activité des chloroleucites, c'est-à-dire la fonction chlorophyllienne, en laissant subsister l'activité respiratoire qui semble s'effectuer en dehors des mitochondries ou vacuolides, des microleucites, comme cela a lieu avec les globules du sang.

L'atmolyse est donc bien, en définitive, une dialyse provoquée par les vapeurs, agissant principalement sur l'eau contenue dans le bioprotéon pour s'y substituer, mais pouvant s'exercer aussi sur d'autres principes immédiats que l'eau, comme je le montrerai, en particulier, par l'action des vapeurs des liquides organiques neutres sur les graines oléagineuses, par exemple.

Signalons encore une autre différence entre le mécanisme de la dialyse entre liquides et l'atmolyse.

Dans les expériences dont je donne le détail plus loin j'ai expérimenté comparativement avec les récipients membraneux ouverts et avec ces mêmes récipients fermés et formant une cellule, une ampoule pleine et close.

Dans les tubes ouverts plongés dans un liquide osmotique, la dialyse se fut effectuée rapidement; il n'en a pas été de même pour les tubes ouverts plongés dans l'air saturé de vapeurs atmolysantes. On n'a observé aucune transsudation sur leurs parois, tandis qu'elle s'est montrée rapidement sur les parois des vésicules ou ampoules pleines et closes plongées dans ces mêmes atmosphères atmolysantes.

Cette expérience prouve, en outre, que, pour que l'exsudation ait lieu, il faut qu'une certaine pression s'exerce à l'intérieur du système par suite de la vapeur atmolysante qui déplace une quantité du liquide atmolysable parfois supérieur à son propre volume, ce qui semble paradoxal. Mais on sait,

depuis les recherches de R. Dubois et de P. Regnard sur l'action des hautes pressions sur les êtres vivants, que l'eau est fixée d'une manière particulière dans la cellule vivante.

R. Dubois a montré que, si l'on comprime à 700 atmosphères des cuisses de grenouille dans l'eau, les muscles fixent une certaine quantité d'eau qui s'en échappe quand cesse la pression : c'est ce qui explique comment les animaux retirés des grandes profondeurs arrivent à la surface comme s'ils avaient été cuits : ils se sont déshydratés, mais non desséchés. Ce que R. Dubois a appelé la *tension de dissociation* de l'eau et des tissus a été augmenté et c'est justement ce qui se produit dans l'action des vapeurs atmolyzantes sur la substance organisée.

La pression intérieure peut exercer sur les parois une action analogue à celle qui se produit sur la membrane d'accroissement des cellules artificielles de Traube. La pénétration endosmotique distend la membrane et la rend plus perméable par accroissement des interstices moléculaires.

Expériences sur les vésicules closes.

Influence de la membrane, du liquide intérieur et de l'atmosphère atmolyzante.

Quatre sacs pleins et clos, formés d'une mince membrane de caoutchouc, ont été introduits dans l'atmolyseur contenant des vapeurs d'éther :

Le sac A contenait de l'essence de térébenthine non rectifiée ;

Le sac B contenait de l'huile d'olive verdâtre ;

Le sac C contenait de l'eau ;

Le sac D contenait de la glycérine neutre.

Les quatre sacs avaient été laissés préalablement à l'air libre et il ne s'était pas produit de suintement de liquide intérieur à la surface d'aucun d'eux.

Au bout de douze heures de séjour dans l'atmolyseur, il s'était écoulé au travers des sacs A, B, C, une certaine quantité de liquide, tandis qu'en D on ne remarquait aucune trace d'exsudation, la membrane n'était même pas imprégnée par la glycérine.

Bien qu'une assez forte quantité de vapeur d'éther eût pénétré en C, ainsi que l'indiquait la saveur éthérée très prononcée du contenu, la proportion d'eau exsudée était beaucoup plus faible que celle d'essence de térébenthine et d'huile d'olive sortie de A et de B.

La difficulté de l'exsudation de l'eau ne peut s'expliquer ici que par la nature de la membrane, puisque beaucoup d'éther avait été absorbé par le contenu aqueux de la vésicule close qui s'était d'ailleurs notablement distendue. On peut supposer alors que l'eau a pu trouver une issue par de très petits pores résultant de la distension des parois de la vésicule, mais que la transsudation a été, par contre, limitée parce que l'eau ne *mouille* pas le caoutchouc.

La glycérine contenue en D ne renfermait pas d'éther.

Cette particularité ne peut s'expliquer que par le fait que la glycérine n'est pas soluble dans l'éther en forte proportion. Ce qui tend à confirmer cette hypothèse, c'est que l'essence de térébenthine de A renfermait une notable quantité d'éther, ainsi que l'huile de B. Or, ces deux corps sont solubles dans l'éther.

La vésicule renfermant la glycérine ayant été placée dans l'atmolyseur avec des vapeurs d'alcool amylique, dans lequel la glycérine est soluble, on vit que, au bout de seize heures, avec une température moyenne de 12 degrés, la membrane de caoutchouc, de sèche et opaque qu'elle était, était devenue translucide, luisante, humide, et qu'elle avait laissé exsuder quelques gouttes de glycérine tombées dans le récipient placé au-dessous.

Au bout de vingt-quatre heures, il semble s'être produit un état d'équilibre, le suintement s'est arrêté. J'ai alors remplacé

l'alcool amylique par de l'alcool éthylique : quarante-huit heures après, il y avait une nouvelle quantité de liquide exsudé, environ le double qu'après l'action des vapeurs d'alcool amylique.

Cette expérience donne lieu, en outre, à une autre constatation très intéressante.

L'huile d'olive atmolysée avait perdu sa couleur verdâtre et son goût fruité, et l'essence de térébenthine atmolysée était plus limpide que celle qui était restée dans l'ampoule; son odeur était moins forte.

Il reste à décider si ces produits avaient été modifiés chimiquement par l'atmolyse, ou bien s'il y avait eu simplement séparation de principes primitivement contenus dans le liquide introduit dans les vésicules.

A cet égard, de nouvelles expériences sont indiquées.

Si la nature de la membrane est changée, les résultats de l'atmolyse sont également modifiés.

La mince membrane de caoutchouc ayant été remplacée par de la celloïdine (viscose), la glycérine et l'eau ont traversé la membrane, mais non l'huile d'olive et l'essence de térébenthine. J'ai également obtenu des résultats différents avec les cellules de collodion.

Les cellules de collodion riciné sont beaucoup plus perméables que celles que l'on obtient avec du collodion non élastique.

J'ai expérimenté également avec des cellules de baudruche, et les résultats ont encore été sensiblement différents.

Les cellules faites avec l'intestin de mammifères (mouton) ont montré une particularité déjà notée pour la dialyse par immersion, à savoir que les résultats ne sont pas identiques, selon que la paroi interne du tube digestif forme la paroi intérieure de la cellule ou bien si c'est le contraire.

Une étude approfondie de l'influence de la paroi des cellules serait intéressante à faire, car dans les tissus normaux et pathologiques l'action physiologique ou thérapeutique sur les

cellules naturelles doit varier non seulement avec la composition du contenu de la cellule, mais encore avec la composition de sa paroi.

De ces expériences, on peut tirer ces conclusions importantes au point de vue physiologique :

1° *Les résultats de l'atmolyse varient avec le contenu de la cellule, la nature de la paroi et des vapeurs atmolysantes ;*

2° *La paroi des vésicules doit être perméable aux vapeurs atmolysantes ;*

3° *Elle doit être également perméable aux liquides à atmolyser ;*

4° *La vapeur atmolysante doit être soluble dans le liquide à atmolyser.*

Je me propose d'analyser plus complètement ces données, ainsi que l'action de la pression et de la température dans un travail ultérieur.

CHAPITRE V

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR L'ATMOLYSE DES TISSUS VÉGÉTAUX ET SUR CEUX DE CERTAINS ANIMAUX

Dès 1883, R. Dubois avait montré, comme je l'ai signalé dans mon historique [5], que les vapeurs atmolysantes activent et augmentent la production du sucre dans les fruits.

Beaucoup plus tard, en 1914 [51], Mazé, en faisant agir directement l'éther et le chloroforme sur la racine de betterave, obtint un résultat de même ordre. Dans une première communication à l'Académie des Sciences, il publia le résultat d'expériences qui le conduisirent à admettre que le chloroforme et l'éther exercent sur la racine de betterave une action stimulante, qui se traduit de plusieurs façons :

1° Les liquides provoquent une excrétion rapide du sucre en réserve ;

2° Ils exaltent ou atténuent quelques-uns des phénomènes diastasiques les plus faciles à observer.

Puis, dans une seconde note à la Société de Biologie, il conclut de ses nouvelles recherches que le chloroforme et l'éther augmentent l'activité de la sucrase, ou, plus vraisemblablement, en provoquent une sécrétion plus abondante. L'action du chloroforme est plus énergique et plus régulière que celle de l'éther.

Il convient de remarquer que le fait découvert et signalé par

R. Dubois n'a été indiqué que d'une manière pour ainsi dire incidente, et que Mazé n'a pas fait de recherches sur les fruits. D'un autre côté, Mazé ne se sert pas de l'atmolyse, mais, comme dans l'éthérolyse de Legrip, il immerge les racines de betterave et les tubercules de pommes de terre dans l'éther et dans le chloroforme. Ensuite, il semble que ses recherches n'aient qu'un caractère préliminaire.

Je me suis proposé, pour ce motif, d'étendre beaucoup le champ des recherches de R. Dubois dans cette direction, en me servant exclusivement de l'atmolyse.

C'est le résultat de ces recherches qui constitue le présent chapitre.

Voici, succinctement indiquée, la méthode que j'ai suivie :

Les fruits, racines et tubercules ont été soumis aux opérations suivantes :

1^o PRODUIT INITIAL. — Le sucre réducteur préformé a été dosé sur la matière réduite en pâte et passée au tamis.

Après addition d'un petit excès de CO^3Ca pour saturer les acides naturels et empêcher leur action hydrolysante, cette pâte a été portée à l'ébullition pendant vingt minutes avec de l'eau distillée en quantité telle que le poids final total correspondait à huit fois le poids du produit mis en œuvre.

Le produit trouble était filtré, déféqué au réactif de Courtonne¹, filtré de nouveau, et c'est sur le filtratum limpide que l'on procédait au dosage du sucre réducteur; en tenant compte, bien entendu, des diverses dilutions, et en établissant des calculs sur une quantité de matière première correspondant au poids du liquide employé.

Pour déterminer les effets de l'atmolyse sur la teneur en sucres réducteurs des produits naturels : fruits, racines, tuber-

¹ Réactif de Courtonne : acétate neutre de plomb, 200 grammes; acide acétique, Q. S; eau distillée, Q. S. pour 1.000 centimètres cubes. Dissoudre le sel dans l'eau et ajouter par petites portions de l'acide acétique jusqu'à réaction neutre au tournesol. Filtrer.

cules, etc., j'ai procédé, pour chaque substance, à trois dosages :

1^o Dosage le jour même de la mise en expérience;

2^o Dosage après exposition d'un échantillon témoin sous une cloche de même contenance que l'atmolyseur, dans une atmosphère humide, cette exposition étant de même durée que dans le cas suivant;

3^o Dosage après séjour de la substance dans l'atmolyseur sous vapeurs d'éther ou de benzine cristallisable.

Pour chacun de ces dosages, les produits étaient réduits en pulpe, délayés dans un volume déterminé d'eau distillée et le mélange porté à l'ébullition, comme je l'ai indiqué ci-dessus.

Après l'ébullition, le poids définitif total était porté à un chiffre donné par addition de quantité suffisante d'eau distillée, et, après mélange intime, le tout était jeté sur un filtre.

Le dosage du sucre réducteur était pratiqué sur un poids déterminé de la colature filtrée et limpide correspondant à une quantité connue de la matière première, de manière à établir un pourcentage exact.

DOSAGE DU SUCRE RÉDUCTEUR

Pour ces dosages, j'avais à choisir entre un grand nombre de procédés. Mais, comme il ne s'agissait pas du dosage d'un sucre déterminé, j'ai fait choix du procédé le plus simple, le plus généralement employé, et dont les résultats sont suffisamment exacts : celui à la liqueur cupro-tartrique alcaline.

Mais cette liqueur s'altérant avec facilité, quel que soit son mode d'obtention, j'ai substitué à ce réactif une liqueur obtenue en mélangeant, extemporanément, volumes égaux de deux solutions suivantes, totalement inaltérables :

Solution cuprique A :

Sulfate de cuivre cristallisé pur.	35 gr.
Acide sulfurique pur	5 cc.
Eau distillée : q. s. pour.	1.000 cc.

Solution alcaline B :

Sel de Seignette	150 gr.
Lessive de soude à 30 ^{0B} , non carbonatée .	300 cc.
Eau distillée : q. s. pour	1.000 cc.

Pour l'emploi, on prend de chacune 10 cc. et on mêle.

Quand on procède à un dosage avec cette liqueur, la fin de la réaction est difficile à saisir. Aussi ai-je mis en œuvre le procédé Causse et Bonnaus en ajoutant au réactif 5 cc. d'une solution de ferrocyanure de potassium à 5 pour 100.

Mais Bonnaus a montré que le pouvoir réducteur des sucres est plus fort en présence du ferrocyanure, et cela dans le rapport de 100 à 82, de telle sorte que, si une solution réductrice révèle en présence de ce sel une teneur en sucre de 100, sa richesse réelle n'est que de 82.

Pour éviter tous calculs supplémentaires, il n'y a qu'à titrer la liqueur cuprique en présence du ferrocyanure.

J'ai procédé au titrage de ma liqueur avec une solution aqueuse de glucose pur anhydre à 1 pour 100.

Quand on met en œuvre une liqueur cuprique ferrocyanurée, on voit tout d'abord la couleur bleue du liquide s'atténuer de plus en plus, au fur et à mesure des affusions, passer ensuite au vert clair, puis enfin au jaune, sans qu'il soit possible, comme le dit Bonnaus, dans un important travail sur cette réaction, de faire un choix motivé dans cette succession de couleurs.

Mais cet auteur a observé que, en continuant les affusions de solutions réductrices dans la liqueur maintenue à l'ébullition, il arrive un moment où une seule goutte de solution sucrée produit brusquement une coloration brun intense dont la production est facilement et nettement perceptible, surtout si la soude qui a servi à la préparation du réactif n'est pas carbonatée.

Je me suis strictement conformé à ces indications, aussi bien pour le titrage de ma liqueur que pour les dosages.

EXPÉRIENCE N° 1. — VAPEURS D'ETHER

*Produit étudié : Grains de raisin
maturité incomplète grains coupés avec 1 millimètre environ
de pédoncule. Récolté ce même jour. (10 septembre 1921)*

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 97 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . 100 50
		a) Suc écoulé . 7 50
		b) Produit atmolyse 93
		c) Total 100 50
Date du dosage du sucre 10 septembre	Durée du séjour sous cloche : 8 jours Date du dosage du sucre 18 septembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 8 jours Date du dosage du sucre 18 septembre
Quantité de sucre 12 gr. 472 ‰	Quantité de sucre 14 gr. 620 ‰ de grain initial	Quantité de sucre a) Suc 0,589 b) Résidu . . . 15,140 c) Total. . . . 15,729 ‰ de grain initial

Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3

OBSERVATION. — Les grains ont commencé à changer d'aspect dès le 2^e jour d'atmolyse.

Tandis que les témoins sous cloche avaient conservé l'apparence primitive du fruit frais avec translucidité relative, les grains atmolysés avaient perdu cette demi-transparence.

Leur contenu avait un aspect laiteux, quelques grains s'étaient fendus. Le suc écoulé était rose et limpide.

EXPÉRIENCE N° 2. — VAPEURS D'ETHER

*Produit étudié : Raisin blanc (clairette) mis en expérience
1 heure après récolte
grains avec 1 millimètre de pédoncule. (26 septembre 1921)*

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 97 50	Poids initial . . 100 gr. Poids final. . . 101 10
		a) Suc écoulé . . 8 65
		b) Produit atmo- lysé 92 45
		c) Total <u>101 10</u>
Date du dosage du sucre 26 septembre 1921	Durée du séjour . . sous cloche : 5 jours Date du dosage du sucre 1 ^{er} octobre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 5 jours Date du dosage du sucre 1 ^{er} octobre
Quantité de sucre 16,53 ‰	Quantité de sucre 17,023 ‰	Quantité de sucre a) Suc. . . . 0,682 b) Résidu. . . 16,469
		c) Total . . . <u>17,151 ‰</u>
		du fruit initial

Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3

EXPÉRIENCE N° 3. — VAPEURS D'ETHER

*Produit étudié : Raisin de Jaquez incomplètement mûr
1 h. 1/2 après récolte. (2 octobre 1921)*

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSE
Poids. 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final. . . 101
		a) Suc écoulé . . 5
		b) Produit atmo- lysé 96
		c) Total <u>101 gr.</u>
Date du dosage du sucre 2 octobre	Durée du séjour sous cloche : 6 jours Date du dosage du sucre 8 octobre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 6 jours Date du dosage du sucre 8 octobre
Quantité de sucre 18,22 ‰	Quantité de sucre 19,875 ‰	Quantité de sucre a) Suc. 0,53 b) Résidu. . . . 19,74
		c) Total <u>20,27 ‰</u> de fruit initial

Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3

EXPÉRIENCE N° 4. — VAPEURS D'ETHER

*Produit étudié : Figues demi-mûres (violette)
récoltées ce même jour. (19 septembre 1921)*

TÉMOIN INITIAL TÉMOIN SOUS CLOCHE PRODUIT ATMOLYSÉ

Poids. 119 gr.	Poids initial. . . 128 gr.	Poids initial. . . 127 gr.
	Poids final . . . 123 20	Poids final . . . 131

a) Suc écoulé . . .	46
b) Produit atmo- lysé	85
c) Total	<u>131 gr.</u>

Date du dosage du sucre 19 septembre 1921	Durée du séjour sous cloche : 6 jours Date du dosage du sucre 25 septembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 6 jours Date du dosage du sucre 25 septembre
--	---	--

Quantité de sucre 23,294 %	Quantité de sucre 24,187 %	Quantité de sucre a) Suc 9,685 b) Résidu. . . 24,837 c) Total. <u>34,522 %</u> soit 27,183 % de produit initial.
-------------------------------	-------------------------------	---

Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3

OBSERVATIONS. — Le suc écoulé pendant l'atmolyse est d'une consistance sirupeuse et d'une coloration violet-rouge foncée.

Les figues témoins sous cloche n'ont pas changé d'aspect. Elles sont tout simplement un peu plus molles. Elles présentent quelques points de moisissures.

Les figues atmolysées sont devenues très molles. Elles se sont affaissées dans l'entonnoir qui les contenait.

REMARQUE. — La matière colorante du suc n'est pas précipitée par le réactif de Courtonne. Elle vire simplement au bleu.

Le suc, traité par $Az H^3$ = vert	} à revoir
— — — — — HCl = rouge	

EXPÉRIENCE N° 5. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Banane verte coupée en tranches

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . . 98 50	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . . 102 50
		a) Suc écoulé . b) Produit atmolyse c) Total 102 50
Date du dosage du sucre 19 novembre 1921	Durée du séjour sous cloche : 5 jours Date du dosage du sucre 24 novembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 5 jours Date du dosage du sucre 24 novembre
Quantité de sucre °/o Pas de sucre réducteur préformé L'hydrolyse par SO^4H^2 n'en a pas produit	Quantité de sucre °/o Pas de sucre réducteur même après hydrolyse	Quantité de sucre Pas de sucre ni avant ni après hydrolyse
Nombre de dosages 3 Recherches	Nombre de dosages : 3	Nombre de dosage

OBSERVATIONS. — L'hydrolyse a été pratiquée avec SO^4H^2 à 1 °/o.

EXPÉRIENCE N° 6. — VAPEURS DE BENZINE CRISTALLISABLE

Produit étudié: Banane presque mûre

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids 100 gr.	Poids initial. . . 100 gr. Poids final . . . 98	Poids initial . . . 100 gr. Poids final . . . 103
		a) Suc écoulé . . . 0
		b) Résidu . . . 103
		c) Total. 103
Date du dosage du sucre 5 décembre 1921	Durée du séjour sous cloche: 15 jours Date du dosage 20 décembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 15 jours Date du dosage 20 décembre
Quantité de sucre 2,65 ‰	Quantité de sucre 4,32 ‰	Quantité de sucre 13,25 ‰
Nombre de dosages: 4	Nombre de dosages: 3	Nombre de dosages: 4

EXPÉRIENCE N° 7. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Pommes coupées en tranches

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS GLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids: 100 gr.	Poids initial. . . 100 gr. Poids final . . . 100	Poids initial. . . 100 gr. Poids final . . . 102
		a) Suc écoulé . . . 0
		b) Résidu . . . 102
		c) Total. 102
Date du dosage du sucre 25 novembre 1921	Durée du séjour sous cloche : 10 jours Date du dosage du sucre 5 décembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 10 jours Date du dosage du sucre 5 décembre
Quantité de sucre 11,257 %	Quantité de sucre 7,659 %	Quantité de sucre 9,635 %
Nombre de dosages : 4	Nombre de dosages : 3	Nombre de dosages : 3

EXPÉRIENCE N° 8. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Topinambours coupés en tranches

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids 100 gr.	Poids initial. . . 100 gr. Poids final. . . . 92 gr.	Poids initial. . . 100 gr. Poids final. . . . 103 50
		a) Suc écoulé . . qq. gouttes b) Résidu 103 50 c) Total 103 50

Date du dosage du sucre 24 novembre	Durée du séjour sous cloche : 5 jours Date du dosage 29 novembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 5 jours Date du dosage 29 novembre
--	---	--

Quantité de sucre Pas de sucre réducteur préformé Après hydrolyse par SO^+H^2 12,47 %	Quantité de sucre Pas de sucre préformé Après hydrolyse par SO^+H^2 12,47 % du produit initial	Quantité de sucre Pas de sucre préformé Après hydrolyse par SO^+H^2 16,96 % de subst. mise en œuvre
--	---	--

Nombre de dosages : 4 Nombre de dosages . Nombre de dosages : 4

OBSERVATIONS. — Le sucre réducteur formé doit provenir de l'action de SO^+H^2 sur l'inuline contenue dans le topinambour.
La quantité d'inuline a été augmentée par l'atmolyse.

REMARQUE. — Il y aurait lieu de voir : E. BOURQUELOT et BRIDEL : Application de la méthode bio-chimique de recherche du glucose à l'étude des produits de l'hydrolyse fermentaire de l'inuline.

C. R., t. CLXXII, p. 946.

EXPÉRIENCE N° 9. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Pommes de terre coupées

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids 100 gr.	Poids initial . 100 gr. Poids final . . 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . . 104
		a) Suc écoulé . . 0
		b) Résidu . . . 104
		c) Total . . . , 104 gr.
Date du dosage du sucre 25 novembre	Durée du séjour sous cloche : 10 jours Date du dosage 5 décembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 10 jours Date du dosage 5 décembre
Quantité de sucre Pas de sucre préformé	Quantité de sucre Rien	Quantité de sucre Rien
Pas de sucre après hydrolyse		

Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3

OBSERVATIONS. — Les tranches avaient acquis par l'atmolyse une certaine dureté.

Une ébullition prolongée n'est pas arrivée à les ramollir.

EXPÉRIENCE N° 10. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Pommes de terre coupées

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 97 50	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 101
		a) Suc écoulé . . 1
		b) Résidu . . . 100
		c) Total. <u>101 gr.</u>
Date du dosage 18 janvier 1922	Durée du séjour sous cloche : 9 jours Date du dosage 27 janvier	Durée du séjour dans l'atmolyseur 9 jours Date du dosage 27 janvier
Quantité de sucre Néant	Quantité de sucre Néant	Quantité de sucre Néant

Nombre de dosages : 4 Nombre de dosages : 3 Nombre de dosages : 3

OBSERVATIONS. — Cette nouvelle expérience confirme les résultats de celle du 25 novembre 1921 (n° 9).

Tubercules provenant de la même récolte que ceux de l'expérience 9.

EXPÉRIENCE N° 11. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Pommes de terre après gel

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial. . . 100 gr. Poids final . . . 100 gr.	Poids initial . . . 100 gr. Poids final . . . 103
		a) Suc écoulé . . . 1 75
		b) Résidu . . . 101 25
		Total 103 00
Date du dosage 18 janvier 1922	Durée du séjour sous cloche : 8 jours Date du dosage 27 janvier	Durée du séjour dans l'atmolyseur 8 jours Date du dosage 27 janvier
Quantité de sucre Néant	Quantité de sucre 0,741 ‰	Quantité de sucre Le suc a été mêlé à la décoction 0,852 ‰

Nombre de dosages : 4 Nombre de dosages : 4 Nombre de dosages : 4

OBSERVATIONS. — Les pommes de terre coupées en tranches ont été exposées sur une fenêtre pendant trois nuits consécutives.

Un pot rempli d'eau dans les mêmes conditions avait le matin une épaisseur de glace de 4 centimètres environ. N'ayant pas de thermomètre à minima je n'ai pas pu déterminer exactement le degré de la température.

Les tranches atmolysées avaient pris une coloration noirâtre pénétrant toute leur chair. Elles avaient acquis une certaine dureté.

EXPÉRIENCE N° 12. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Patates coupées en tranches minces

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
—	—	—
Poids 100 gr.	Poids initial . . 100 gr.	Poids initial . . 100 gr.
	Poids final . . 99 50	Poids final . . . 103 gr.
		a) Suc écoulé . . 0 00 b) Résidu 103 gr. d) Total 103 gr.
Date du dosage du sucre 7 novembre 1921	Durée du séjour sous cloche : 6 jours Date du dosage 13 novembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 6 jours Date du dosage 13 novembre
Quantité de sucre 7,206 %	Quantité de sucre 8,3728 %	Quantité de sucre 10,341 %
Nombre de dosages : 3	Nombre de dosages : 3	Nombre de dosages : 3

EXPÉRIENCE N° 13. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Navets coupés en tranches.

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final. . . 108
		a) Suc écoulé . . 0 b) Résidu . . . 108
		c) Total 108 gr.
Date du dosage du sucre 25 novembre	Durée du séjour sous cloche : 10 jours Date du Dosage 5 décembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 10 jours Date du dosage. 5 décembre
Quantité de sucre 3,419 ‰	Quantité de sucre 2,792 ‰	Quantité de sucre 3,2615 ‰
Nombre de dosages : 3	Nombre de dosages : 3	Nombre de dosages : 3

OBSERVATIONS. — L'odeur sulfureuse particulière s'est développée considérablement dans les tranches soumises à la vapeur d'éther.

EXPÉRIENCE N° 14. — VAPEURS D'ETHER.

Produit étudié : Carottes coupées en tranches

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial. . . 100 gr. Poids final . . . 96 gr.	Poids initial . . . 100 gr. Poids final . . . 106 gr.
		a) Suc écoulé . . . 0 00 b) Résidu . . . 106 gr. c) Poids total . . 106 gr.
Date du dosage du sucre 25 novembre	Durée du séjour sous cloche : 10 jours Date du dosage 5 décembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 10 jours Date du dosage 5 décembre
Quantité de sucre 3,219 ‰	Quantité de sucre 2,43 ‰	Quantité de sucre 3,286 ‰
Nombre de dosages : 3	Nombre de dosages : 3	Nombre de dosages : 3

OBSERVATIONS. — Les tranches atmolysées étaient un peu plus dures.

EXPÉRIENCE N° 15. — VAPEURS D'ETHER.

Produit étudié : Betteraves coupées en tranches minces

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 98 50	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . . 102 gr.
		a) Suc écoulé . . 0 00
		b) Résidu . . . 102 gr.
		c) Poids total . . <u>102 gr.</u>
Date du dosage du sucre 13 novembre 1921	Durée du séjour sous cloche : 6 jours Date du dosage 19 novembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 6 jours Date du dosage 19 novembre
Quantité de sucre Pas de sucre réducteur Après hydrolyse par SO^4H^2 15,143 ‰	Quantité de sucre 15,143 ‰ après hydrolyse	Quantité de sucre 15,329 ‰ après hydrolyse
Nombre de dosages : 3	Nombre de dosages : 3	Nombre de dosages : 3

GLYCOGÉNÈSE ET ATMOLYSE

Conclusions.

Les expériences relatées dans les tableaux précédents ont eu pour objet de rechercher si effectivement l'atmolyse pouvait provoquer une augmentation de principes donnant aux fruits, racines, rhizomes, etc., leur saveur sucrée, comme R. Dubois l'avait indiqué dans ses premières recherches relatées dans mon historique bibliographique, et comme pouvaient le faire admettre les expériences de Mazé, bien que celui-ci ait opéré non par atmolyse, mais par immersion directe dans un liquide anesthésique, ce qui est le procédé adopté par Legrip dans l'éthérolyse.

Il est bien entendu que le mot *sucré* employé dans mes observations ne signifie ni saccharose, ni glucose, mais seulement l'ensemble des principes immédiats agissant à la manière de ce dernier sur le réactif cupro-potassique. Je n'ai pu donner à ces expériences toute la précision désirable parce qu'elles ont un caractère préliminaire général, et je ne me dissimule pas qu'il serait désirable que chaque principe réducteur fut isolé et caractérisé à part; malheureusement, c'est là une étude qui, de beaucoup, aurait dépassé les limites que je pouvais me proposer d'atteindre. Mais la voie est indiquée pour des recherches très intéressantes à faire dans cette direction au moyen de l'atmolyse.

Il importait de tenir compte des effets de mûrissement et du séjour en vase clos, c'est pourquoi j'ai dosé les principes réducteurs au début de l'expérience et après séjour dans une cloche de même dimension que celle de l'atmolyseur, mais ne renfermant pas de vapeurs anesthésiques, et pendant une même durée.

Pour les raisins et les figues, j'ai noté d'une manière constante une augmentation du sucre, mais elle a toujours été inférieure à celle que présentaient ces mêmes fruits dans l'atmolyseur, bien qu'il y ait eu, suivant les fruits mis en expérience, des écarts parfois importants. Pour les figues, l'accroissement du sucre dû à l'atmolyse a été considérable, alors que celui qui était dû au mûrissement dans l'air confiné a été relativement très faible.

Les Bananes ont donné des résultats très différents, suivant l'état plus ou moins avancé de leur maturité.

De mes expériences sur ces fruits et d'autres que je relaterai autre part, on peut conclure que, dans les fruits trop verts, l'action atmolysante ne remplace pas le travail de la maturation, qu'elle ne met en œuvre que des matériaux préformés, dont elle provoque le contact et qui, sans elle, resteraient longtemps séparés.

Il est permis également de penser que les vapeurs atmolysantes, en paralysant l'activité physiologique des cellules, empêchent celles-ci de consommer une partie des sucres, ou des matériaux saccharigènes préformés, tout en facilitant l'action des zymases sur ces derniers. On peut dire que dans ces expériences les effets de la maturation ont été pour ainsi dire brusqués, comme l'indique d'ailleurs la coloration brune prise par les téguments, mais qui ne s'est pas montrée dans la banane verte de l'expérience 5. Ce brunissement, déjà noté par R. Dubois pour les poires, est celui que l'on observe chez des fruits blets et est vraisemblablement dû à l'action des oxydases contenues dans le tégument.

Dans l'expérience 7 (pommes), pendant le séjour dans la cloche, la teneur en sucre a diminué, mais il y a lieu de noter qu'il s'était développé de nombreuses moisissures sur les fruits contenus dans la cloche, ce qui n'a pas eu lieu dans l'atmolyseur. Il n'en est pas moins remarquable que, dans ce dernier, non seulement la perte des fruits conservés dans l'air confiné a été compensée, mais notablement dépassée. Pourtant la

proportion de sucre des fruits atmolysés s'est trouvée inférieure à celle du produit initial. Ce cas constitue une exception à la règle générale, dont la cause m'échappe quant à présent.

Avec le topinambour, il y a eu une augmentation très notable de sucre, mais elle n'a pu être mise en évidence que par l'hydrolyse chimique.

Avec les pommes de terre, j'ai été surpris de ne trouver aucune trace de sucre, ni avant, ni après l'atmolyse. Pourtant, le gel a fait apparaître du sucre. La quantité a été plus forte par l'action combinée du gel et de l'atmolyse.

La patate et les navets ont présenté une augmentation notable de sucre sous l'influence de l'atmolyse.

Pour les carottes, il y a eu dans l'air confiné une diminution du sucre initial, mais elle a été compensée par l'atmolyse avec même une légère augmentation.

La betterave, après hydrolyse, a montré une augmentation de la teneur en sucre après l'atmolyse.

De cet ensemble, on peut conclure que les fruits, rhizomes et racines ont subi, sous l'influence atmolysante des vapeurs anesthésiques, une augmentation parfois considérable de la teneur en sucre primitive.

ACTION DE L'ATMOLYSE SUR LES SEMENCES OU FRUITS OLÉAGINEUX

Dans la même communication, où R. Dubois signalait la formation du sucre sous l'influence de l'atmolyse [5], l'auteur ajoute : « Dans les tissus animaux, l'action des vapeurs organiques ne semble pas bornée non plus à une simple déshydratation, celle-ci paraît être suivie de dédoublements importants. Les animaux conservés pendant longtemps dans ces vapeurs prennent une odeur de graisse très manifeste, et, de plus, j'ai pu constater dans le péritoine d'un cobaye, qui avait séjourné pendant deux mois dans une cloche (avec des vapeurs

atmolysantes), une quantité considérable de cristaux très réfringents, solubles dans l'éther, le chloroforme et l'alcool, présentant enfin les caractères principaux des corps gras. »

C'est cette remarque qui m'a conduit à cette hypothèse que chez les végétaux, et particulièrement chez ceux qui fabriquent des corps gras, l'atmolyse pourrait exercer une influence sur la lipogénèse, analogue à celle que j'ai constatée pour la glycogénèse¹.

TECHNIQUE DES EXPÉRIENCES

PRODUITS HUILEUX. — Qu'il se soit agi de graines oléagineuses ou de fruits (olives), la matière première a été mélangée avec soin, de manière à obtenir un échantillon moyen.

Avant de soumettre cet échantillon à l'action des vapeurs dans l'atmolyseur, j'ai procédé à un dosage immédiat de l'huile sur un poids déterminé.

J'ai réduit les produits en poudre ou en pulpe selon leur consistance, et je les ai traités par macération d'abord, par

¹ REMARQUE. — On sait que dans la formation des corps gras, particulièrement dans le fruit de l'olivier, l'action des zymases joue le rôle principal : il y a donc, sous ce rapport, un rapprochement à faire entre la lipogénèse et la glycogénèse, et l'atmolyse agit vraisemblablement dans le premier cas, comme dans le second, en mettant en contact les principes d'où dérivent les corps gras. D'après le professeur E. Couvreur, ces derniers ne se formeraient pas aux dépens des hydrates de carbone.

Pendant la période de maturation des graines de ricin, les réserves de graisse et d'hydrates de carbone augmentent parallèlement. A une certaine période de la maturation, même isolées de la plante, les graines s'enrichissent de réserves, mais là encore, l'accroissement des hydrates de carbone et celui des graisses sont parallèles, et l'un ne se forme pas aux dépens de l'autre [56].

Je pense que l'atmolyse pourrait fournir de précieux renseignements sur le mécanisme intime de la lipogénèse, mais mes recherches sur ce point intéressant ne sont pas encore assez avancées pour figurer dans ce travail.

Ce que je puis dire, dès à présent, c'est que les vapeurs atmolysantes produisent des modifications profondes dans les fruits et les graines oléagineuses, comme nous le verrons bientôt.

lixiviation ensuite dans un appareil de Soxhlet, jusqu'à épuisement, et cela à l'aide de l'éther anesthésique.

Après évaporation du solvant, j'ai procédé à la pesée du résidu huileux¹.

Les témoins, mis sous cloche pendant un laps de temps égal à celui de l'exposition dans l'atmolyseur, ont été traités de la même manière; mais, dans ce cas, le solvant choisi était celui dans les vapeurs duquel les graines ou fruits avaient été exposés.

J'ai procédé aux dosages comme dans la première expérience, c'est-à-dire après pulvérisation ou pulpation.

Il en a été de même en ce qui concerne les produits retirés de l'atmolyseur.

MOUTARDE. — Les graines ont été passées au moulin. Sur la farine obtenue, j'ai procédé comme suit :

1° Un poids déterminé de farine a été traité par macération d'abord, par lixiviation ensuite, dans un appareil de Soxhlet, jusqu'à épuisement.

Le solvant employé était l'éther anesthésique.

2° 100 grammes ont été placés dans l'atmolyseur sous vapeurs :

- a) D'éther anesthésique;
- b) De benzine cristallisable;
- c) De chloroforme pur.

Après un séjour plus ou moins long, la poudre a été retirée de l'appareil et soumise comme ci-dessus à une macération et à une lixiviation à l'aide du solvant dont les vapeurs avaient été employées².

¹ Ce qui a été dosé comme huile c'est donc l'ensemble des substances solubles dans l'éther.

² Les quelques gouttes de liquide écoulées pendant l'atmolyse ne contenaient pas d'huile.

AMANDES. — Les amandes étaient débarrassées de leur coquille, mais non mondées.

La technique a été la même que pour la moutarde.

Une certaine quantité d'huile s'est écoulée (légèrement jaune), dont le poids a été ajouté à celui de l'huile extraite par le solvant.

RICINS. — Les semences de Ricin n'ont donné lieu, sans décortication, à aucun écoulement.

Privées de leur enveloppe, l'atmolyse par l'éther produit l'écoulement d'une certaine quantité d'huile, totalement incolore, imprégnée d'éther.

Le chloroforme et la benzine n'ont fait sortir de la graine aucun liquide.

Les graines soumises à l'atmolyse par l'éther n'ont pas changé d'aspect, leur opacité est la même.

Par contre, les vapeurs de benzine et de chloroforme donnent aux graines une espèce de translucidité très marquée.

Et, si les graines atmolysées à l'éther se laissent assez facilement pulvériser, celles provenant de l'atmolyse au chloroforme et à la benzine ne donnent au mortier qu'une pâte d'aspect et de consistance gélatineuse presque translucide.

EXPÉRIENCE N° 1 — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Semences de Ricin décortiquées

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids 100 gr.	Poids initial . 100 gr. Poids final . . 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final. . . 112 gr.
		a) Suc écoulé . 37 728 b) Résidu . . . 74 272 c) Total 112
Date du dosage de l'huile 27 octobre 1921	Durée du séjour sous cloche : 8 jours Date du dosage 5 novembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 8 jours Date du dosage 5 novembre
Quantité d'huile 48,56 %	Quantité d'huile 48,56 %	Quantité d'huile a) Suc. . . . 37 728 b) Résidu . . 35 088 c) Total . . . 72 816 %

OBSERVATIONS. — Les semences atmolysées n'ont pas changé d'aspect.
Après évaporation de l'éther qui les imprégnait, elles sont devenues friables.

EXPÉRIENCE N° 2. — VAPEURS DE BENZINE

Produit étudié : Semences de Ricin décortiquées

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . . 100	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . . 128
		a) Suc écoulé . . 8
		b) Rendu. . . . 120
		c) Total 128
Date du dosage de l'huile 5 décembre 1921	Durée du séjour sous cloche : 11 jours Date du dosage 16 décembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 11 jours Date du dosage 16 décembre
Quantité d'huile 48,564 %	Quantité d'huile 48,564 %	Quantité d'huile N. Le suc écoulé a été joint aux graines pilées et le tout épuisé par benzine 64,06 %

OBSERVATIONS. — Les graines, opaques le jour de la mise en œuvre, sont devenues, sous l'action des vapeurs de benzine, presque transparentes.

La pulvérisation des graines atmolysées était impossible.

Je n'ai obtenu qu'une pâte d'aspect gélatineux.

C'est cette pâte qui a été épuisée par la benzine.

Le résidu de l'évaporation de ce véhicule a l'apparence d'une graisse molle, blanche, mobile, mais pas liquide comme l'huile extraite par l'éther, après atmolyse avec ce dernier produit.

Ce résidu gras est soluble dans la benzine ; insoluble en partie dans l'éther.

EXPÉRIENCE N° 3. — VAPEURS D'ÉTHER

Produit étudié : Amandes douces fraîches.

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . . 109
		a) Suc écoulé . . 8 b) Résidu. . . . 101 c) Total. 109 gr.
Date du dosage de l'huile 9 novembre	Durée du séjour sous cloche : 7 jours Date du dosage 16 novembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 7 jours Date du dosage 16 novembre
Quantité d'huile 48,008 % par épuisement au Soxhlet	Quantité d'huile 48,010 %	Quantité d'huile a) Suc. 8 b) Résidu . . . 49,180 c) Total 57,180 %

OBSERVATION. — Après l'action de la vapeur d'éther, les amandes se mou-
dent avec une très grande facilité.

EXPÉRIENCE N° 4. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Graines de moutarde noire

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final. . . 104 gr.
		a) Suc écoulé . . 0
		b) Résidu . . . 104
		c) Total 104 gr.
Date du dosage 23 novembre	Durée du séjour sous cloche : 7 jours Date du dosage 30 novembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 7 jours Date du dosage 30 novembre
Quantité d'huile 31,848 ‰	Quantité d'huile 31,848 ‰	Quantité d'huile 31,850 ‰

OBSERVATION. — Il ne s'est produit aucune trace d'essence de moutarde.

EXPÉRIENCE N° 5. — VAPEURS D'ETHER

Produit étudié : Olives mi-mûres.

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids. 100 gr.	Poids initial. . 100 gr. Poids final . . 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final. . . 112 gr.
		a) Suc marron sans huile
Date du dosage de l'huile 18 novembre	Durée du séjour sous cloche : 7 jours Date du dosage 25 novembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 7 jours Date du dosage 25 novembre
Quantité d'huile 17,262 ‰	Quantité d'huile 17,293 ‰	Quantité d'huile 17,59 ‰

EXPÉRIENCE N° 6. — VAPEURS DE BENZINE

Produit étudié : Olives mi-mûres.

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
—	—	—
Poids 100 gr.	Poids initial. . . 100 gr. Poids final . . . 100 gr.	Poids initial . . . 100 gr. Poids final. . . 116 gr. Suc : quelques gouttes sans huile
Date du dosage 5 décembre 1921	Durée du séjour sous cloche : 15 jours Date du dosage 20 décembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 15 jours Date du dosage 20 décembre
Quantité d'huile 12,642 %	Quantité d'huile 13,386 %	Quantité d'huile 13,402 %

OBSERVATIONS — Les fruits sous cloche comme témoins avaient gardé leur aspect primitif, un peu fané. Retirés de l'atmolyseur sous vapeurs de benzine, ces fruits sont gonflés, sans rides.

La petite quantité de suc jaune écoulé ne contenait pas d'huile.

N. — Il n'a pas été fait deux dosages initiaux pour l'expérience 6 et l'expérience 7, l'une faite sous vapeurs de benzine, l'autre sous vapeurs de chloroforme.

EXPÉRIENCE N° 7. — VAPEURS DE CHLOROFORME

Produit étudié : Olives mi-mûres

TÉMOIN INITIAL	TÉMOIN SOUS CLOCHE	PRODUIT ATMOLYSÉ
Poids 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . . 100 gr.	Poids initial . . 100 gr. Poids final . . . 111 gr.
Suc écoulé, sans huile		
Date du dosage de l'huile 5 décembre	Durée du séjour sous cloche : 15 jours Date du dosage 20 décembre	Durée du séjour dans l'atmolyseur 15 jours Date du dosage 20 décembre
Quantité d'huile 12,642 %	Quantité d'huile 13,386 %	Quantité d'huile 19,322 %

Mes expériences sur les graines et les fruits oléagineux ont donné lieu aux remarques suivantes :

Pour les graines de Ricin, le changement de poids des témoins sous cloche a été nul, ainsi que pour les graines de moutarde. L'augmentation a été assez marquée pour les amandes et plus élevée pour les olives.

Sous l'influence de l'atmolyse, le rendement en huile a été considérablement augmenté pour les graines de Ricin sous l'influence de l'éther et de la benzine, tandis que, pour les olives non mûres, l'augmentation provoquée par les vapeurs de ces deux derniers liquides a été très faible, alors qu'avec les vapeurs de chloroforme elle a été relativement considérable.

Les vapeurs d'éther ont provoqué une augmentation assez forte de la proportion des corps gras, mais il n'a pas été fait

d'expériences comparatives avec la benzine et le chloroforme.

Les vapeurs d'éther n'ont amené aucun changement dans les graines sèches de moutarde.

De l'ensemble de ces observations on peut conclure que les vapeurs atmolysantes ont d'une manière générale le pouvoir d'augmenter le rendement en corps gras, dans les conditions où j'ai opéré. Cette augmentation s'est montrée parfois considérable. Sous ce rapport, la lipogénèse et la glycogénèse présentent de grandes analogies.

REMARQUE. — Il doit rester ,bien entendu, que ce que je désigne dans mes expériences sous le nom d'*huile*, de *corps gras*, c'est l'ensemble des principes immédiats solubles dans les dissolvants ordinaires de ces substances, et non celles-ci à l'état de pureté.

ACTION DE L'ATMOLYSE SUR LA NOIX DE KOLA FRAICHE

La coloration brune que prennent certains fruits sous l'influence de l'atmolyse, et les dédoublements de glucosides, que R. Dubois signala le premier sous l'influence des vapeurs anesthésiques, m'ont suggéré l'idée d'étudier leur action sur la noix de Kola fraîche.

On sait qu'à l'état frais l'enveloppe de la noix de Kola, ainsi que l'amande, sont blanches, mais que par la dessiccation l'ensemble durcit beaucoup en prenant une coloration brun foncé.

Si l'on divise par tranches une noix fraîche incolore, elle ne tarde pas à se colorer en rouge brun. Cette coloration est due à l'oxydation d'un chromogène qui, dans la noix de Kola fraîche, serait combiné à de la caféine et du glucose pour former un produit incolore. L'oxydation de ce chromogène (Kolanine de Knebel) se fait très lentement à l'air libre et très

rapidement en présence d'une oxydase contenue dans la noix de Kola.

Le chromogène paraît même subir une dislocation par hydrolyse précédant l'action de l'oxydase, et le résultat final de ces deux actions successives serait le Rouge de Kola de Knebel. Ce qui permet de supposer que l'oxydation doit être précédée d'une autre modification, c'est que, si l'on soumet à l'action des vapeurs d'alcool bouillant sous une faible pression, ou à celle de l'autoclave, des noix fraîches incolores, elles perdent complètement la propriété de se colorer en rouge brun au contact direct de l'air; l'oxygène libre est donc incapable d'agir sur le chromogène à moins que la réaction oxydante ne soit préparée par une autre enzyme. L'oxydase active la coloration, mais celle-ci peut se produire bien que très lentement sous l'influence de l'oxygène libre quand le chromogène a été modifié. La vapeur d'alcool bouillant et la vapeur d'eau à 110 degrés supprimant à la fois toutes les zymases contenues dans la graine, la coloration brun rouge n'apparaît plus ni rapidement ni même lentement à l'air libre.

MM. G. Perrot et A. Goris se sont servi de ce procédé pour *stériliser* ou *stabiliser* les noix de Kola fraîches, mais on ne saurait s'appuyer sur des faits de ce genre pour présenter aux médecins ce qu'ils appellent des *extraits physiologiques végétaux* dont l'action serait identique à celle de la noix fraîche. Il est bien évident que la noix de Kola fraîche se trouve par cette *stabilisation* considérablement altérée.

On peut en dire autant des noix fraîches sur lesquelles on a fait agir les vapeurs atmolyzantes.

EXPÉRIENCES SUR LA NOIX DE KOLA FRAICHE

1° Le 19 mars, trois noix de Kola fraîches pesant ensemble 73 grammes ont été mises dans l'atmolyseur avec des vapeurs d'éther. Aubout de deux ou trois heures elles ont commencé à brunir. Retirées de l'atmolyseur le 23 mars, leur poids avait

augmenté de 1 gramme : aucun liquide n'avait exsudé. L'extérieur avait pris la même couleur foncée que les noix desséchées depuis longtemps. L'intérieur également s'était coloré, mais les amandes étaient moins foncées que l'enveloppe : le tout avait fortement durci.

2° Trois noix fraîches d'un blanc légèrement rosé, laissées comme témoins à l'air libre, n'avait subi aucune modification, sauf une perte de poids de 0 gr. 60 centigrammes. L'amande était blanche, tendre, se laissant facilement couper au couteau.

3° Trois noix ayant un poids initial de 83 gr. 09 centigrammes ont été mises le même jour dans l'atmolyseur avec des vapeurs de chloroforme. Le brunissement a été un peu moins rapide qu'à vecl'éther. Il n'y a eu aucune transsudation. L'amande était fortement colorée et très dure. Il y avait eu, le 22, une augmentation de poids de 1 gr. 40.

4° Trois graines de Kola, mises le 19 mars dans l'atmolyseur avec des vapeurs de benzine, ont été retirées le 22. Au lieu d'une augmentation de poids, j'ai constaté une légère diminution de ce dernier de 60 centigrammes. La coloration a été un peu moins rapide qu'avec le chloroforme et l'éther, et le tissu a moins durci.

5° Des noix, soumises sous une légère pression aux vapeurs d'alcool bouillant, sont restées blanches, ainsi d'ailleurs que celles qui avaient été chauffées à l'autoclave dans la vapeur d'eau à 110 degrés.

Au bout de dix jours les graines atmolysées avaient, à l'air libre, perdu plus d'eau que les témoins qui avaient conservé leur souplesse et dont la teinte était devenue simplement un peu plus rose.

La perte de poids pour 100 avait été :

Pour les noix fraîches à l'air.	. . .	14,16 pour 100
— chloroformées.	. . .	17 pour 100
— éthérisées	. . .	19,86 pour 100
— benzinées	. . .	23,03 pour 100

Le durcissement et le brunissement des graines s'étaient encore accentués après leur sortie de l'atmolyseur.

Ces expériences confirment pleinement les conclusions de R. Dubois, à savoir que les vapeurs atmolysantes provoquent dans l'intérieur des tissus des réactions, particulièrement des réactions zymasiques, et que l'atmolyse ne peut être préconisée comme un procédé d'extraction des principes médicamenteux contenus dans les végétaux vivants ou frais. Elle ne peut donner que ce que R. Dubois appelle des *extraits atmolysés*. Ceux-ci peuvent avoir un véritable intérêt pharmacodynamique, car il est bien évident qu'il n'y a aucun avantage à empêcher la formation de certains principes immédiats, par exemple comme ceux qui donnent à la valériane son activité, et que ce résultat peut même avoir une action très préjudiciable.

ACTION DE L'ATMOLYSE SUR QUELQUES ANIMAUX MARINS

Dans l'historique de la question de l'atmolyse, j'ai rappelé (pages 37, 38, 39), que R. Dubois s'était servi de l'atmolyse pour extraire et pour séparer les principes immédiats photo-gènes de la Pholade dactyle au moyen du chloroforme et de l'éther.

Je me suis proposé, en employant le même dispositif expérimental, de rechercher comparativement quelle serait l'action des vapeurs de benzine.

Or, j'ai constaté que, de même que l'action des vapeurs d'éther et celle des vapeurs de chloroforme sont différentes, de même celle des vapeurs de benzine diffère des deux précédentes. Ces dernières provoquent une abondante exsudation de matières protéiques précipitables par l'alcool, mais dans lesquelles j'ai en vain recherché la présence de la luciférase et de la luciférine, tandis que, dans les siphons, on en trouvait encore au bout de cinq jours d'atmolyse.

Les vapeurs de benzine ne détruisent pas ces principes,

mais, au lieu d'aider à leur séparation, elles facilitent leur contact et favorisent ainsi la réaction photogène, de telle sorte qu'il ne reste plus finalement dans le liquide exsudé que les produits résultant de l'oxydation de la luciférine ou peroxy-luciférine de R. Dubois, mélangée à d'autres protéides. Sans doute, la peroxy-luciférine obtenue dans ces conditions est régénérable à l'état de luciférine, par des agents réducteurs convenablement choisis et particulièrement par l'hydrogénase, découverte par R. Dubois, dans le syphon de la Pholade, laquelle, dans certaines conditions, dégage de l'hydrogène à l'état naissant¹, mais c'est une question sur laquelle je me propose de revenir dans des recherches ultérieures.

J'ai essayé également l'action de l'atmolyse sur les *Murex* producteurs de la pourpre, qui ont fait l'objet de si nombreux et si remarquables travaux de la part du professeur R. Dubois [55]. On sait que c'est à cet expérimentateur que l'on doit la découverte du venin de la glande à pourpre et son étude physiologique, ainsi que celle des deux principes qui, par leur réaction, engendrent la célèbre teinture de la pourpre dont on ignorait complètement le mécanisme physiologique de formation.

J'ai essayé l'extraction et la séparation de ces deux derniers au moyen de l'atmolyse par l'éther. A cet effet, j'ai mis dans deux entonnoirs très évasés une douzaine de *Murex brandaris* d'une part, et une douzaine de *Murex trunculus* de l'autre, en ayant soin de placer l'ouverture de la coquille en bas de façon à faciliter l'écoulement du liquide atmolysé.

Chacun de ces entonnoirs a été placé dans un atmolyseur avec vapeurs d'éther. La douille très large et courte de ces entonnoirs était engagée dans le goulot d'un flacon renfermant de l'alcool à 96 degrés.

Très rapidement, il s'est produit un écoulement abondant de

¹ R. Dubois, Réversibilité de la fonction photogénique par l'hydrogénase de la Pholade dactyle (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 840, 1919.)

mucus qui, dans l'alcool, s'est transformé en un coagulum incolore avec *Murex brandaris* et légèrement teinté en bleu avec *Murex trunculus*. L'écoulement de produits atmolysés s'est continué pendant cinq jours au bout desquels j'ai examiné les produits obtenus. J'ai été fort surpris de ne trouver ni purpurine dans le liquide alcoolique surnageant le coagulum, ni purpurase dans ce dernier, qui paraissait résulter presque uniquement de la coagulation par l'alcool de matières protéiques muqueuses et sanguines. Les glandes à pourpre étaient fortement colorées, celles de *Murex brandaris* en vert, qui plus tard a passé au rouge à la lumière, et celles de *M. trunculus* en bleu. La réaction purpurase-purpurine s'était produite dans la glande elle-même. Mais l'injection sous-cutanée de quelques gouttes du résidu aqueux de l'évaporation du liquide alcoolique a très rapidement amené les accidents caractéristiques du venin de la glande à pourpre ou purpuro-toxine chez une Anguille, chez deux Gobies vigoureux et chez plusieurs autres petits poissons qui n'ont pas tardé à succomber.

Si le procédé à l'atmolyse ne semble pas propice à l'extraction de la purpurase et de la purpurine, il semble en revanche constituer un moyen précieux de séparation du venin de la pourpre, dont la nature semble être alcaloïdique et qui, en tous cas, ne se confond pas avec la purpurine, ainsi que le montre nettement mon expérience.

CHAPITRE VI

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR L'ATMOLYSE

ET CONCLUSIONS

Il résulte de mes recherches, bibliographiques et expérimentales que je crois pouvoir exposer dans ce chapitre, des *Considérations générales* et des *CONCLUSIONS* susceptibles de résumer l'état actuel de la question de l'*Atmolyse*.

I. — Le nom d'atmolyse a été donné par le professeur Raphaël Dubois à l'action exercée par les *vapeurs* de liquides organiques neutres sur les substances organisées.

II. — L'atmolyseur de R. Dubois est l'appareil destiné à l'étude de l'atmolyse. Quelques modifications utiles ont été apportées à l'appareil primitif.

III. — L'atmolyse est donc une invention française; elle est de date relativement récente bien qu'elle soit, pour ainsi dire, le corollaire des recherches nombreuses poursuivies pendant de longues années par R. Dubois, sur le mode d'action physiologique des alcools et des anesthésiques généraux: éther, chloroforme, etc., sur les tissus organisés, recherches qui lui ont permis d'en expliquer le mécanisme physiologique intime.

IV. — En outre, ces recherches ont permis non seulement de provoquer et d'expliquer une foule de réactions pouvant prendre naissance au sein des tissus des organes,

mais encore d'extraire de ceux-ci des principes qui n'avaient pu l'être par d'autres procédés, ou bien d'en simplifier l'extraction, comme cela a été mis en évidence pour la préLuciférine, la Luciférine et la Colucifréase, la purpurotoxine, le ferment hépatique, l'antithrombine, l'alcoolase. C'est un procédé unique pour l'extraction des ferments intracellulaires ou endocellulaires.

V. — L'atmolyse a servi à montrer la localisation de produits normalement isolés dans les tissus, tels que les zymases et les glucosides sur lesquels elles agissent. On a pu prouver que des désordres physiologiques peuvent résulter de l'action mécanique de l'atmolyse.

VI. — Elle a conduit à des applications pratiques telles que le procédé *d'embaumement et de momification à l'air libre* du professeur R. Dubois, par exemple, et en pharmacologie à la fabrication des *intraits*.

VII. — Toutefois, le rôle qu'on lui a attribué, dans ce dernier cas, n'est pas celui qui a été expérimentalement établi par R. Dubois, qui a montré que seulement l'expression de *Produits atmolysés*, convenait à des produits pharmaceutiques ou autres obtenus par atmolyse.

VIII. — Les vapeurs atmolysantes produisent des effets de même nature que ceux du gel; ce qui a conduit R. Dubois, non seulement à découvrir le mode d'action du froid sur les tissus, mais à démontrer que le froid, qui est employé d'ailleurs comme anesthésique local, agit, en somme, par le même mécanisme que les anesthésiques généraux.

IX. — Les liquides volatils qui fournissent les vapeurs atmolysantes peuvent avoir une constitution chimique très différente : ce sont des alcools, aldéhydes, éthers, composés chlorés de l'éthane, carbures d'hydrogène, etc., mais ils possèdent une

propriété commune qui permet de les grouper dans une même famille physico-chimique, ou plutôt physiologique : celle d'être des anesthésiques généraux.

X. — R. Dubois a depuis longtemps démontré que ces composés organiques avaient tous une chaleur spécifique très inférieure à celle de l'eau qui est l'élément primordial essentiel de la substance vivante ou bioprotéon, lequel n'est autre chose qu'un biogel instable. Le mélange de ces composés avec l'eau de constitution des tissus abaisse la chaleur spécifique, le pouvoir endosmotique étant en raison directe de la chaleur spécifique des liquides, et le pouvoir exosmotique en raison inverse de son accroissement. Plus la chaleur spécifique d'un fluide est faible, et plus il est exosmotique. Or, l'action fondamentale, générale de l'atmolyse, est de ralentir d'abord, puis d'arrêter les mouvements endosmotiques des humeurs et, à un degré plus élevé, de provoquer l'exosmose, c'est-à-dire l'issue des sucres cellulaires, comme R. Dubois l'avait démontré dès ses premières expériences.

La rapidité et la force de l'action toxique des alcools et autres composés à vapeurs atmolysantes est en raison directe de la faiblesse de leur chaleur spécifique ou, ce qui revient au même, de l'importance de leur poids atomique. Tous ces agents augmentent ce que R. Dubois a nommé *la tension de dissociation de l'eau et des tissus*, mais, en plus de cette propriété commune, chaque liquide à vapeur atmolysante possède des propriétés spécifiques.

XI. — Il est vrai que toutes les vapeurs atmolysantes peuvent déplacer l'eau des cellules ou même de leurs éléments constitutants organisés : leucites, microleucites ou vacuolides de R. Dubois (mitochondries des Allemands), cette eau peut entraîner avec elle des principes immédiats cristalloïdaux et même colloïdaux, qui ne seront pas les mêmes suivant l'agent employé : c'est ce qui ressort nettement de mes expériences.

Le choix de la vapeur atmolysante n'est donc pas indifférent suivant l'effet que l'on veut produire dans l'intérieur d'un tissu, ou suivant le ou les principes immédiats que l'on se propose d'atmolyser.

XII. — Dans le cas le plus simple de vésicules closes renfermant des liquides à atmolyser, il faut qu'il y ait de certaines affinités entre la vapeur atmolysante et le liquide interne, celle-là doit être, par exemple, soluble dans celui-ci. R. Dubois avait montré, bien avant Overton, que l'éther traverse le blanc de l'œuf de poule pour se localiser dans les lipoïdes contenus dans le jaune : c'est cette importante remarque qu'Overton n'a fait que généraliser.

XIII. — L'atmolyse ne peut se manifester qu'autant que le produit à atmolyser est séparé de la vapeur atmolysante par un septum plus ou moins dense : c'est donc un phénomène de dialyse, mais un cas très spécial, puisqu'il s'agit de vapeurs. D'ailleurs, les résultats ne sont pas les mêmes que si l'on immerge un tissu ou un colloïde quelconque dans l'éther, par exemple. Dans ce dernier cas il s'agit bien de l'éthérolyse du Legrip mais non de l'atmolyse de Dubois.

XIV. — La nature du septum a également une influence que j'ai mise en évidence.

XV. — La tension de vapeur, la pression, le degré de température modifient, pour des raisons identiques, la marche de l'atmolyse.

XVI. — Dans certains cas, l'atmolyse ne provoque pas l'hydrolyse des produits saccharigènes, mais les prépare à l'action hydrolysante, comme la cuisson prépare l'amidon à l'action amylolytique de la salive.

XVII. — La maturation des fruits est provoquée ou accélérée par l'atmolyse.

XVIII. — Dans les fruits, racines, tubercules, la glycogénèse est accrue dans des proportions parfois importantes.

XIX. — Il en est de même pour certains fruits ou semences oléagineuses, l'adipogénèse est accélérée ou accrue dans une notable proportion.

XX. — Dans quelques expériences, la dépense des aliments, due à la maturation, s'est trouvée ralentie, en même temps que la glycogénèse et l'adipogénèse étaient accrues par l'atmolyse.

XXI. — Mes recherches sur la noix de Kola fraîche ont vérifié, en les complétant, les notions dues aux recherches de R. Dubois sur la localisation des zymases et sur les réactions provoquées par l'atmolyse dans l'intimité des tissus.

XXII. — L'atmolyse appliquée à l'étude de quelques animaux marins a permis d'en séparer certains principes immédiats, tels que la préLuciférine et la purpurotoxine.

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE PREMIER. — Introduction	1
CHAPITRE II. — Bibliographie.	4
CHAPITRE III. — Historique et évolution de la question de l'atmolyse	9
CHAPITRE IV. — Recherches sur le mécanisme intime de l'atmolyse	51
1° Définition de l'atmolyse	51
2° Recherches expérimentales sur le mécanisme intime de l'atmolyse	58
CHAPITRE V. — Recherches expérimentales sur l'atmolyse des tissus végétaux et sur ceux de certains animaux.	66
Dosage du sucre réducteur	68
Glycogène et atmolyse	85
Action de l'atmolyse sur les semences ou fruits oléagineux	87
Technique des expériences	88
Action de l'atmolyse sur la noix de kola fraîche	97
Expériences sur la noix de kola fraîche	98
Action de l'atmolyse sur quelques animaux marins	100
CHAPITRE VI. — Considérations générales sur l'atmolyse et conclusions	103

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

La question de la chlorophylle animale.

Lu et accepté :

Les Membres du Jury :

C. COUVREUR.
J. RAY.
CLÉMENT.

Vu et approuvé :

Lyon, le 17 décembre 1922.
LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE LYON,
C. DEPÉRET.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 17 décembre 1922.

LE RECTEUR,
PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
J. CAVALIER

